

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA**

Maria Alice Witt

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES FINOS DE MULTICAMADAS
DE POLIELETRÓLITOS NATURAIS DEPOSITADOS POR *LAYER-by-LAYER***

Tese submetida ao Programa de Pós
Graduação em Química da
Universidade Federal de Santa
Catarina para a obtenção do Grau de
Doutora em Química
Orientador: Prof. Alfredo T. N. Pires
Coorientador: Prof. Gero Decher

Florianópolis
2012

Witt, Maria Alice

Obtenção e caracterização de filmes finos de multicamadas de polieletrólitos naturais depositados por Layer-by-Layer [tese] / Maria Alice Witt ; orientador, Alfredo Tibúrcio Nunes Pires ; co-orientador, Gero Decher. - Florianópolis, SC, 2012.

178 p. ; 21cm

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas. Programa de Pós-Graduação em Química.

Inclui referências

1. Química. 2. Layer-by-Layer. 3. filmes finos. 4. polieletrólitos. 5. quitosana. I. Pires, Alfredo Tibúrcio Nunes . II. Decher, Gero. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Química. IV. Título.

Maria Alice Witt

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES FINOS DE MULTICAMADAS
DE POLIELETRÓLITOS NATURAIS DEPOSITADOS POR *LAYER-by-LAYER***

A Tese foi julgada adequada para obtenção do Título de Doutora em Química e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós Graduação em Química.

Florianópolis, 29 de Junho de 2012.

Prof. Almir Spinelli
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Prof. Afredo T. N. Pires
Orientador

Prof. Maria do C. Gonçalves
Relatora

Prof. Rosane M. D. Soares

Prof. Cláudia Sayer

Prof. Marta E. R. Dotto

Prof. Luiz F. Dias Probst

Às pessoas mais incríveis que
conheço: *super* pai e *super* mãe.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter colocado pessoas muito especiais no meu caminho.

À minha *super* família, meus pais Alfeu&Rita e meus irmãos L. Mateus&Ania e Paulo E., por toda a estrutura familiar construída. Por estarem sempre do meu lado, dando amor, apoio, compreensão,...enfim, por me fazerem acreditar que sou capaz! Amo muito vocês!

Ao Prof. Alfredo pela amizade ao longo desses anos de convivência, demonstrando dedicação e paciência durante a orientação desse trabalho. Não posso deixar de agradecer também pelo incentivo constante e pelas oportunidades que me proporcionou durante essa fase da minha vida. Meus sinceros agradecimentos!

Ao Prof. Gero Decher, por me acolher de braços abertos e proporcionar a incrível experiência de trabalhar no seu grupo de pesquisa como *integrante*, e não como expectadora. A bagagem adquirida durante o estágio de doutorado-sanduíche servirá de motivação para desbravar novos horizontes!

Ao Dr. Olivier Felix que sempre auxiliou dentro do laboratório, nas discussões científicas,... Além disso, nunca mediu esforços para ajudar os novos integrantes com a regularização dos documentos. Sua ajuda foi imprescindível para uma estada tranqüila e organizada em Estrasburgo. *Merci beaucoup!!*

Aos Prof. Marta E. R. Dotto e Ivan Bechtold do Dpto de Física da UFSC, que foram sempre solícitos e auxiliaram de maneira valiosa na aquisição e discussão dos dados de AFM.

Aos professores do Grupo de Pesquisa em Materiais Poliméricos – POLIMAT – Prof. Valdir Soldi e Prof. José R. Bertolino, pelos ensinamentos e valiosas discussões ao longo dessa caminhada acadêmica.

À mestre Marli S. Soldi pela amizade, incentivo, valiosas discussões e pelas muitas palavras de apoio.

À todos os colegas e amigos do POLIMAT que fazem do ambiente de trabalho um local leve e agradável, sem deixar o compromisso com a pesquisa de lado. Essa turma é especial; Larissa, Paulinha, Carmen, Dega, Carol, Luanda, Fer, Marcos, Clarice, Adri, Léia,

Tati,...Guardarei sempre com carinho todos os momentos compartilhados e as xícaras de café tomadas!!

Um *muchas gracias* em especial à Dra. Carmen M. O. Muller (*Carmencita*), que desde os seus primeiros dias no POLIMAT não mede esforços para nos ajudar,...Parte essencial do grupo e uma grande amiga!

À amiga Lidi, que sempre ajudou dando dicas experimentais para melhorar os espectros de RMN. Muito obrigada Lidi!

Um agradecimento mais que especial ao casal de amigos Fran&Henrique, que fizeram da minha estada na França uma fase de aprendizado incrível!Se tornaram amigos indispensáveis!Obrigada “*família*”!

À turma globalizada que tive a sorte de conhecer no *velho mundo*: Rebecca, Johanna, Diana, Patty, Patrícia, David, César, Dominique, Rahul, Ivan, Ali, Stephan. Vocês se permitiram criar uma *família*, amparando uns aos outros na distância longe de casa!

Aos integrantes do grupo LbL de Estrasburgo; Olivier, Jean-Louis, Rebecca, Dominique, Rahul, Rafael, Emek, Nejla, Rita, Zhiquiang, Yng Ma, Gabi, Dasha, Yulia. Nossas conversas e reuniões de grupo me fizeram crescer muito!!Obrigada pelo incrível aprendizado científico e cultural!

À todos os meus amigos simplesmente *essenciais*...os de Canoinhas, os Vidos, a turma do handebol, e os amigos do curso de Química, que compreenderam meus muitos momentos de ausência física nas reuniões, festas, aniversários e feriados. Sua amizade me faz sentir muito querida e especial, da mesma maneira que vocês são para mim!

À todos os meus amigos que não tenho o prazer de conviver com a frequência que gostaria, mas que guardo com carinho nas boas lembranças!

À CAPES pela bolsa de doutorado e doutorado-sanduiche.

Ao CNPq, através do Projeto Temático de Formação de Rede de Nanotecnologia, sob Edital/Chamada MCT/CNPq n° 74/2010 – Nanociência e Nanotecnologia.

Ao Institut Charles Sadron (ICS – Estrasburgo/França) por todo o amparo legal, infra-estrutura e oportunidade!

À UFSC e à Central de Análises do Departamento de Química.

*“A viagem da descoberta consiste não em achar
novas paisagens, mas em ver com novos olhos”*
(Marcel Proust)

“Ser grande é abraçar uma grande causa”
(William Shakespeare)

RESUMO

A técnica de auto-associação camada-por-camada (*Layer-by-Layer Self-Assembly* – LbL) tem ganho papel de destaque ao longo das últimas décadas no que diz respeito à modificação de superfícies. Essa técnica consiste, basicamente, na deposição alternada de polieletrólitos de cargas opostas, obtendo-se filmes finos nanoestruturados de multicamadas. Neste trabalho esta técnica foi utilizada para a obtenção de filmes finos tipo LbL formados pelos polieletrólitos quitosana [QT] e seu derivado, carboximetilquitosana [CMQT]. Esses mesmos polieletrólitos foram combinados também com poli(estireno sulfonato de sódio) [PSS] e poli(alilamina) [PAH], respectivamente. A obtenção do derivado CMQT através da modificação química da QT foi caracterizada por RMN-¹H e titulação potenciométrica. A massa molar da QT e CMQT foi determinada por viscosimetria como sendo aproximadamente 30.000 e 107.000, respectivamente. A deposição sucessiva das multicamadas de polieletrólitos foi acompanhada pela técnica de elipsometria e microbalança de cristal de quartzo (QCM-D). A influência dos parâmetros experimentais (método de deposição, pH do meio, concentração e massa molar dos polieletrólitos) foi avaliada para todos sistemas estudados. As imagens de AFM obtidas da superfície dos filmes mostraram que a morfologia dos mesmos depende das condições do meio e da natureza dos materiais utilizados. Para os sistemas (CMQT/QT)_n e (CMQT/PAH)_n a formação do filme ocorreu através da deposição sucessiva de estruturas granulares dos complexos. Para o sistema (CMQT/PAH)_n o tamanho e distribuição das estruturas granulares foram influenciadas pela força iônica do meio. Todos os sistemas aqui estudados apresentam potencial bioaplicação, onde a precisão estrutural da superfície em contato com células, por exemplo, desempenha um papel importante.

Palavras-chave: *Layer-by-Layer*, filmes finos, polieletrólitos, quitosana.

ABSTRACT

The Layer-by-Layer Self-Assembly technique has attracted considerable attention during the last decades concerning surface modification. The principle of this technique encompasses the alternate deposition of polyelectrolytes of opposite charges, resulting in nanostructured multilayer thin films. In the present study, this technique was used to obtain LbL thin films composed by chitosan [CS] and its derivative, carboxymethylchitosan [CMCS]. These polyelectrolytes was also combined with poly(styrene sulfonate) [PSS] and poly(allylamine) [PAH], respectively. The CMCS derivative obtained through chemical modification of the CS was characterized by NMR-¹H and potentiometric titration. The CS and CMCS molar mass determined by viscosimetry method was approximately 30,000 and 107,000, respectively. Subsequently deposition of the multilayers was monitored using ellipsometry and quartz crystal microbalance (QCM-D) techniques. The influence of the experimental parameters (deposition method, pH of the medium, polyelectrolyte concentration and molar mass) was evaluated for all the studied systems. AFM images of the film surfaces showed that the morphology depends on the medium conditions and on the nature of the materials used. For the systems (CMCS/CS)_n and (CMCS/PAH)_n the film formation occurs through subsequent deposition of granular structures formed by the complexes. For the system (CMCS/PAH)_n the size and distribution of the granular structures showed a clear influence from the ionic strength of the medium. The systems studied here present potential bioapplication, where the structural precision of the surface in contact with the cells, e. g., plays an importante role.

Keywords: *Layer-by-Layer*, thin films, polyelectrolytes, chitosan.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema ilustrativo da precipitação de um polieletrólito com a adição de sal.....	32
Figura 2. Processo de adsorção superficial de cadeias de polieletrólitos quando a concentração de eletrólito (c_s) no meio é baixa. Condição <i>i</i>) polieletrólitos com baixa densidade de carga, <i>ii</i>) polieletrólitos com maior densidade de carga e <i>iii</i>) polieletrólitos com carga igual à da superfície. Adaptado de HOAGLAND (2003).....	34
Figura 3. Processo de adsorção superficial de cadeias de polieletrólitos quando a concentração de eletrólito (c_s) no meio é alta. Condição <i>i</i>) polieletrólitos com baixa densidade de carga e <i>ii</i>) polieletrólitos com alta densidade de carga. Adaptado de HOAGLAND (2003).....	35
Figura 4. Processo de adsorção superficial de cadeias de polieletrólitos quando a concentração de eletrólito (c_s) no meio é intermediária. Condição <i>i</i>) adsorção das cadeias de polieletrólitos dominada pelas atrações eletrostáticas e <i>ii</i>) adsorção das cadeias de polieletrólitos dominada pela energia de interação segmento-superfície. Adaptado de HOAGLAND (2003).....	35
Figura 5. Processo de agregação de dois polieletrólitos com a liberação dos contra-íons.....	37
Figura 6. Equação global da reação que ilustra a formação de um complexo de polieletrólito.....	38
Figura 7. Dois modelos estruturais propostos na literatura por THUNEMAN <i>et al.</i> (2004) para os complexos de polieletrólitos (PECs): tipo (a) <i>escada</i> – “ladderlike” e (b) tipo <i>ovos mexidos</i> – “scrambled egg”.....	39
Figura 8. Estrutura química da lactose; um dissacarídeo formado por uma unidade de galactose e outra unidade de glicose unidas através de uma ligação glicosídica.....	40
Figura 9. Representação estrutural das unidades de repetição da cadeia macromolecular da quitosana, onde p e q representam as unidades desacetilada e acetilada respectivamente.....	41
Figura 10. Esquema reacional para a O-carboximetilação.....	44
Figura 11. Esquema reacional para a N-carboximetilação.....	44
Figura 12. Estrutura química das unidades de repetição da cadeia macromolecular de (a) PSS e de (b) PAH, representando respectivamente poliânion e policátion.....	46
Figura 13. Esquema ilustrativo da formação das multicamadas por atração eletrostática para a obtenção dos nanofilmes tipo LbL.....	48
Figura 14a. Esquema ilustrativo dos diferentes tipos de interação que podem originar filmes do tipo LbL. (A) atração eletrostática (DECHER,	50

1997), (B) ligação de hidrogênio (ZHANG <i>et al.</i> , 2004), (C) emparelhamento <i>base-pair</i> (CARUSO; JOHNSTON; READ, 2005), (D) transferência de carga (YAMAMOTO <i>et al.</i> , 1997).....	
Figura 14b. Esquema ilustrativo dos diferentes tipos de interação que podem originar filmes do tipo LbL. (E) estereoregularidade (AKASHI <i>et al.</i> , 2008), (F) hospedeiro-hóspede (BOURDILLON <i>et al.</i> , 1994), (G) covalente (<i>click chemistry</i>) (CARUSO <i>et al.</i> , 2006), (H) coordenação metal-ligante (RUBINSTEIN <i>et al.</i> , 2005).....	
Figura 15. Esquema ilustrativo do mecanismo de crescimento linear de um filme LbL formado por (PSS/PAH) _n	55
Figura 16. Esquema ilustrativo do mecanismo de crescimento exponencial do filme LbL formado por (HA/PLL) _n	56
Figura 17. Esquema ilustrativo do processo cíclico de formação das multicamadas LbL pelo método de imersão. Onde 1 refere-se a solução do poliânion, 2 e 4 à etapa de lavagem com água e 3 à solução do policátion.....	61
Figura 18. Esquema ilustrativo do processo cíclico de formação das multicamadas LbL pelo método de <i>spin</i> (<i>alta rotação</i>). Onde 1 refere-se a solução do poliânion, 2 e 4 à etapa de lavagem com água e 3 à solução do policátion.....	62
Figura 19. Esquema ilustrativo do processo cíclico de formação das multicamadas LbL pelo método de spray. Onde 1 refere-se a solução do poliânion, 2 e 4 à etapa de lavagem com água e 3 à solução do policátion.....	63
Figura 20. Gráfico que representa o panorama do crescimento do número de trabalhos publicados na área de LbL ao longo das últimas duas décadas.....	65
Figura 21. Esquema ilustrativo que representa o procedimento experimental para a obtenção do derivado CMQT.....	72
Figura 22. Foto do aparelho spin-coater modelo WS-650-15, utilizado para a deposição das multicamadas pelo método denominado <i>spray-spin</i>	80
Figura 23. Esquema ilustrativo dos componentes ópticos e eletrônicos de um elispômetro.....	82
Figura 24. Esquema ilustrativo do processo de deposição de material sobre a superfície do cristal na microbalança (QCM). Em (A) está representado a alteração na frequência; linha vermelha indica o início, e a linha verde após a deposição. (B) e(C) representam a alteração na dissipação; a linha vermelha indica um sistema rígido, e a linha verde um sistema viscoelástico. FONTE: Adaptado de Q-SENSE (2012).....	85
Figura 25. Esquema ilustrativo do princípio da técnica de microscopia de força atômica.....	87

Figura 26. Espectro de RMN- ¹ H da QT BMM utilizada para cálculo do GD(%).....	90
Figura 27. Espectro de RMN- ¹ H da QT MMM utilizada para cálculo do GD(%).....	90
Figura 28. Determinação da viscosidade intrínseca $[\eta]$ para a amostra de quitosana de baixa massa molecular [QT BMM] ($[\eta]$ = 273.55; R = 0,997).....	93
Figura 29. Determinação da viscosidade intrínseca $[\eta]$ para a amostra de quitosana de média massa molecular [QT MMM] ($[\eta]$ = 752.59; R = 0,998)	93
Figura 30. Espectro de RMN- ¹ H do derivado CMQT utilizado para caracterização do produto obtido.....	95
Figura 31. Titulação potenciométrica do derivado CMQT em função do volume de NaOH 0.1 mol.L ⁻¹ adicionado.....	96
Figura 32. Comportamento do derivado CMQT em solução em função do volume de NaOH adicionado durante o procedimento de titulação potenciométrica.....	97
Figura 33. Determinação da viscosidade intrínseca para amostra de carboximetilquitosana (CMQT). ($[\eta]$ = 1.59; R = 0,994).....	99
Figura 34. Variação do potencial zeta do meio para a QT (—) e para CMQT (—) em solução em função do pH do meio. As flechas indicam o ponto inicial da titulação.....	102
Figura 35. Variação dos valores de viscosidade relativa para a amostra de QT MMM (círculo, R = 0.994), QT BMM (losango, R = 0.999) e CMQT (quadrado, R = 0.996) em função da concentração de cada um desses polieletrólitos. Solvente água destilada e pH inicial das soluções de polieletrólitos.....	103
Figura 36. Variação dos valores de viscosidade relativa para a amostra de QT MMM (círculo, R = 0.998), QT BMM (losango, R = 0.993) e CMQT (quadrado, R = 0.984) em função da concentração de cada um desses polieletrólitos. Solvente solução aquosa de NaCl 0.15 mol.L ⁻¹ e pH das soluções ajustado para 6.0, 6.0 e 6.5 respectivamente.....	104
Figura 37. Variação dos valores de viscosidade relativa para a amostra de QT MMM (círculo), CMQT (losango) e para o complexo CMQT/QT MMM formado por essas duas espécies (quadrado) em função do tempo corrido. Solvente água destilada e pH inicial das soluções de polieletrólitos.....	106
Figura 38. Variação dos valores de viscosidade relativa para a amostra de QT BMM (círculo), CMQT (losango) e para o complexo CMQT/QT BMM formado por essas duas espécies (quadrado) em função do tempo corrido. Solvente água destilada e pH inicial das soluções de polieletrólitos.....	106
Figura 39. Variação dos valores de viscosidade relativa para a amostra	108

de QT MMM (círculo), CMQT (losango) e para o complexo formado por essas duas espécies (quadrado) em função do tempo corrido. Solvente solução aquosa de NaCl 0.15 mol.L ⁻¹ e pH das soluções ajustado para 6.0, 6.0 e 6.5, respectivamente.....	
Figura 40. Variação dos valores de viscosidade relativa para a amostra de QT BMM (círculo), CMQT (losango) e para o complexo formado por essas duas espécies (quadrado) em função do tempo corrido. Solvente solução aquosa de NaCl 0.15 mol.L ⁻¹ e pH das soluções ajustado para 6.0, 6.0 e 6.5 respectivamente.....	109
Figura 41. Deposição pelo método de spray das multicamadas do filmes composto por (PSS/QT) _n monitorada por espectroscopia UV-Vis no λ_{max} da espécie PSS, centrado em 194 cm ⁻¹	111
Figura 42. Autoassociação do sistema (PSS/QT) _n em função do número de par de camada depositados pelo método de spray, medido por espectroscopia UV-Vis. (R = 0,998)	111
Figura 43. Autoassociação do sistema (PSS/QT) _n em função do número de par de camada depositado por diferentes métodos, medidos por elipsometria. Imersão (círculos), spray (quadrados) e spray-spin (triângulos). Os coeficientes angulares das curvas para imersão (4,574 nm/par de camada, R = 0,997), spray (1,896 nm/par de camada, R = 1,00) e spray-spin (1,859 nm/par de camada, R = 0,999) indicam o incremento na espessura por par de camada durante a obtenção do filme LbL.....	113
Figura 44. Imagem do filme LbL formado 70 PC do sistema (PSS/QT) _n , depositado pelo método de spray. A marca na parte inferior da amostra corresponde ao local por onde a amostra é fixada no suporte.....	114
Figura 45. Autoassociação do sistema (PSS/QT) _n em função do número de par de camada depositado pelo método de spray, medidos por elipsometria. Solução de QT 1.0 mg.mL ⁻¹ (losangos) e QT 0.5 mg.mL ⁻¹ (círculos). Os coeficientes angulares das curvas para 1.0 mg.mL ⁻¹ (2,056 nm/par de camada, R = 0,999) e 0.5 mg.mL ⁻¹ (0,932 nm/par de camada, R = 0,999) indicam o incremento na espessura por par de camada durante a obtenção do filme LbL.....	115
Figura 46. Variação nos valores de frequência (—) e dissipação (—) durante a deposição das multicamadas de QT e PSS. As flechas indicam o início de cada etapa durante a formação de uma camada: adsorção do polieletrólito (QT ou PSS) e lavagem (lav). Os dados foram reportados com relação à frequência de ressonância fundamental (5 MHz) no quinto harmônico.....	116
Figura 47. Variação nos valores de frequência (círculos vermelhos, eixo à esquerda) e dissipação (círculos pretos, eixo à direita) durante a deposição das multicamadas do sistema (PSS/QT) _n . O coeficiente	117

angular correspondente à região linear da curva é -13,243 Hz/camada ($R = 0,982$). Os dados foram reportados com relação à frequência de ressonância fundamental (5 MHz)

Figura 48. Autoassociação do sistema (CMQT/PAH)_n em função do número de par de camada depositado pelo método de imersão, medidos por elipsometria. PAH 15.000 g.mol⁻¹ (círculos) e PAH 56.000 g.mol⁻¹ (losangos). Os coeficientes angulares das curvas PAH 15. g.mol⁻¹ (5,177 nm/par de camada, $R = 0,999$) e PAH 56.000 g.mol⁻¹ (48,516 nm/par de camada, $R = 0,999$) indicam o incremento na espessura por par de camada durante a obtenção do filme LbL..... 120

Figura 49. Autoassociação do sistema (CMQT/PAH)_n em função do número de par de camada depositado pelo método de spray, medidos por elipsometria. PAH 15.000 g.mol⁻¹ (círculos) e PAH 56.000 g.mol⁻¹ (losangos). Os coeficientes angulares das curvas PAH 15.000 g.mol⁻¹ (18,078 nm/par de camada, $R = 0,999$) e PAH 56.000 g.mol⁻¹ (25,180 nm/par de camada, $R = 0,999$) indicam o incremento na espessura por PC durante a obtenção do filme LbL..... 121

Figura 50. Autoassociação do sistema (CMQT/PAH)_n em função do número de par de camada depositado pelo método de spray-spin, medidos por elipsometria. PAH 15.000 g.mol⁻¹ (círculos) e PAH 56.000 g.mol⁻¹ (losangos). Os coeficientes angulares das curvas PAH 15.000 g.mol⁻¹ (6,886 nm/par de camada, $R = 0,996$) e PAH 56.000 g.mol⁻¹ (13,951 nm/par de camada, $R = 0,993$) indicam o incremento na espessura por par de camada durante a obtenção do filme LbL..... 122

Figura 51. Variação nos valores de frequência (círculos vermelhos, eixo à esquerda) e dissipação (círculos pretos, eixo à direita) durante a deposição das multicamadas do sistema (CMQT/PAH15)_n. Os dados foram reportados com relação à frequência de ressonância fundamental (5 MHz) 124

Figura 52. Variação nos valores de frequência (círculos azuis, eixo à esquerda) e dissipação (círculos pretos, eixo à direita) durante a deposição das multicamadas do sistema (CMQT/PAH56)_n. Esses dados são reportados com relação à frequência de ressonância fundamental (5 MHz) 125

Figura 53. Morfologia superficial dos filmes LbL do sistema (CMQT/PAH56)_n composto de 2, 5, 10 e 20 pares de camadas (eixo vertical) em função da força iônica do meio (eixo horizontal)..... 128

Figura 54. Histograma dos filmes de (CMQT/PAH56)_n contendo 2 PC em função da força iônica do meio. Sendo a, b, c e d relativos à 0; 0,15; 0,50 e 1,0 mol.L⁻¹ de NaCl..... 129

Figura 55. Histograma dos filmes de (CMQT/PAH56)_n contendo 5 PC em função da força iônica do meio. Sendo a, b, c e d relativos à 0; 0,15; 0,50 130

e 1,0 mol.L ⁻¹ de NaCl.....	
Figura 56. Histograma dos filmes de (CMQT/PAH56) _n contendo 10 PC em função da força iônica do meio. Sendo a, b, c e d relativos a 0; 0,15; 0,50 e 1,0 mol.L ⁻¹ de NaCl.....	131
Figura 57. Histograma dos filmes de (CMQT/PAH56) _n contendo 20 PC em função da força iônica do meio. Sendo a, b, c e d relativos a 0; 0,15; 0,50 e 1,0 mol.L ⁻¹ de NaCl.....	132
Figura 58. Autoassociação do sistema (CMQT/QT) _n em função do número de par de camada depositado pelo método de imersão , medidos por elipsometria. QT BMM (quadrados) e QT MMM (círculos) foram utilizadas para a obtenção dos filmes LbL. A obtenção do filme LbL formado por (CMQT/QT BMM) _n nas condições de pH inicial das soluções está indicada pelos losangos. Os coeficientes angulares das curvas QT BMM (18.613 nm/par de camada, R = 0.999), QT MMM (11.478 nm/par de camada, R = 0.998) e CMQT/QT BMM pH inicial (0.377 nm/par de camada, R = 0.816) indicam o incremento na espessura por par de camada durante a obtenção do filme LbL.....	134
Figura 59. Autoassociação do sistema (CMQT/QT) _n em função do número de par de camada depositado pelo método de spray , medidos por elipsometria. QT BMM (quadrados) e QT MMM (círculos) foram utilizadas para a obtenção dos filmes LbL. Os coeficientes angulares das curvas QT BMM (16.598 nm/par de camada, R = 0.999), QT MMM (9.665 nm/par de camada, R = 0.998) indicam o incremento na espessura por par de camada durante a obtenção do filme LbL.....	135
Figura 60. Variação nos valores de frequência (círculos vermelhos, eixo à esquerda) e dissipação (círculos pretos, eixo à direita) durante a deposição das multicamadas do sistema (CMQT/QT MMM) _n . O coeficiente angular correspondente à região linear da curva é -33.9 Hz/número de camada (R = 0.956). Esses dados são reportados com relação à frequência de ressonância fundamental (5 MHz).....	137
Figura 61. Variação nos valores de frequência (círculos vermelhos, eixo à esquerda) e dissipação (círculos pretos, eixo à direita) durante a deposição das multicamadas do sistema (CMQT/QT BMM) _n . O coeficiente angular correspondente à região linear da curva é -269.5 Hz/número de camada (R = 0.982). Esses dados são reportados com relação à frequência de ressonância fundamental (5 MHz).....	138
Figura 62. Imagens em 3D da morfologia superficial dos filmes LbL compostos de 2, 5, 10 e 20 PC do sistema (CMQT/QT) _n utilizando QT BMM (parte superior) ou QT MMM (parte inferior). Todos esses filmes possuem QT como camada mais externa.....	140
Figura 63. Imagens da morfologia superficial e perfil de linha dos filmes LbL compostos de 2, 5, 10 e 20 PC do sistema (CMQT/QT) _n utilizando QT	141

BMM. Todos os filmes possuem QT como camada mais externa. As linhas que resultaram nos perfis da morfologia superficial estão indicadas pelas linhas pontilhas brancas das imagens 3D dos filmes contendo 2 PC.....

Figura 64. Imagens da morfologia superficial e perfil de linha dos filmes LbL compostos de 2, 5, 10 e 20 PC do sistema (CMQT/QT)_n utilizando QT

MMM. Todos os filmes possuem QT como camada mais externa. As linhas que resultaram nos perfis da morfologia superficial estão indicadas pelas linhas pontilhas brancas das imagens 3D dos filmes contendo 2 PC.....

142

Figura 65. Morfologia superficial dos filmes LbL compostos de 2.5, 5.5, 10.5 e 20.5 pares de camadas do sistema (CMQT/QT)_n utilizando quitosana de baixa massa molecular (QT **BMM**) ou média massa molecular (QT **MMM**). Os valores decimais relativos ao número de PC significa que todos os filmes possuem CMQT como camada mais externa

143

Figura 66. Morfologia superficial dos filmes LbL compostos de 2, 5, 10 e 20 pares de camadas do sistema (CMQT/QT)_n depositadas no pH inicial das soluções utilizando QT **BMM** ou QT **MMM**.....

145

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Exemplos de polieletrólitos	30
Tabela 2. Concentrações das soluções de quitosana [QT BMM] e [QT MMM] utilizadas para medir os respectivos tempos de escoamento.....	92
Tabela 3. Concentrações das soluções de carboximetilquitosana [CMQT] utilizadas para medir os tempos de escoamento, η_r e η_{esp}	99
Tabela 4. Valores de $[\eta]$ calculados através do método <i>One-Point</i>	100
Tabela 5. Δf e respectivos valores de massa de Sauerbrey calculados para cada camada (sub-índice) de polieletrólito depositada na obtenção do filme (CMQT/ PAH15) _n	124
Tabela 6. Δf e respectivos valores de massa de Sauerbrey calculados para cada camada (sub-índice) de polieletrólito depositada na obtenção do filme (CMQT/ PAH56) _n	126
Tabela 7. Valores de RMS para os filmes obtidos com QT BMM ou QT BMM , contendo o policátion (QT) ou o poliânion (CMQT) como camada mais externa.....	144

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AFM	Atomic Force Microscopy (Microscopia de Força Atômica)
BMM	Baixa Massa Molar
cac	concentração crítica de agregação
CMC	carboximetilcelulose
cmc	concentração micelar crítica
CMCS	carboxymethylchitosan
CMQT	carboximetilquitosana
COL	colágeno
CS	chitosan
CVD	Chemical Vapor Deposition
FTIR	Fourier Transform Infrared Spectrum (Espectroscopia Infravermelho com Transformada de Fourier)
GD	Grau de desacetilação
GS	Grau de substituição
HA	ácido hialurônico
ICS	Institut Charles Sadron (Instituto Charles Sadron)
LbL	Layer-by-Layer (camada-por-camada)
MM	Massa Molar
MMM	Média Massa Molar
OWLS	Optical Waveguide LightMode Spectroscopy
PAA	poli(ácido acrílico)
PAH	poli(alilamina hidrocloreto)
PAH15	poli(alilamina hidrocloreto) com massa molar $15.000 \text{ g mol}^{-1}$
PAH56	poli(alilamina hidrocloreto) com massa molar $56.000 \text{ g mol}^{-1}$
PC	par de camada
PDADMAC	poli(dialildimetilamônio cloreto)
PDMS	poli(dimetil siloxano)
PEC	complexo de polieletrólitos
PEG	poli(etileno glicol)
PEI	poli(etileno imina)
PEMA	poli(etileno-co-anidrido maleico)
PES	poli(eter sulfona)
PGA	poli(ácido glutâmico)
pl	ponto isoelétrico
PL	poli(lisina)
PLB	poli(L-lisina modificada com grupos biotina)

PLGA – poli(L-ácido glutâmico)
PLL – poli(L-lisina)
PS – poli(estireno)
PSS – poli(estireno sulfonato de sódio)
PVAL – poli(álcool vinílico)
P4VP – poli(4-vinil piridina)
PVS – poli(vinil sulfato)
QCM-D – Quartz Crystal Microbalance – Dissipation (Microbalança de Cristal de Quartzo equipada com sensor para leitura simultânea de Dissipação)
QT – quitosana
RMN-¹H – Ressonância Magnética Nuclear de Próton
SEM – Scanning Electron Microscopy (Microscopia Eletrônica de Varredura)
TEM – Transmission Electron Microscopy (Microscopia Eletrônica de Transmissão)
UV – ultravioleta

LISTA DE SÍMBOLOS

M_v	Massa molar viscosimétrica média
pH	potencial hidrogeniônico
ζ	potencial zeta
χ_s	energia de interação segmento-interface
χ	energia de interação segmento-solvente
c_s	concentração de eletrólito adicionado no meio
A	adenosina
C	citossina
G	guanina
T	timina
η_r	viscosidade relativa
MHz	megahertz
α	constante da equação de Mark-Houwink
v/v	razão volume/volume
f	frequência
m	massa
ppm	medida de concentração que indica <i>parte por milhão</i>
η_{esp}	viscosidade específica
$[\eta]$	viscosidade intrínseca
std	standard deviation (desvio padrão)
pH _i	pH inicial das soluções de polieletrólitos
RMS	root means square (raiz quadrada média)

SUMÁRIO

LISTA DE SÍMBOLOS.....	50
SUMÁRIO.....	52
1. INTRODUÇÃO	27
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	29
2.1 POLIELETRÓLITOS	29
2.1.1. Adsorção de polieletrólitos.....	33
2.1.2. Formação de complexos de polieletrólitos.....	36
2.2. POLISSACARÍDEOS QUE SE COMPORTAM COMO POLIELETRÓLITOS	39
2.2.1. Quitosana [QT].....	40
2.2.2. Carboximetilquitosana [CMQT].....	43
2.3. OUTROS EXEMPLOS DE POLIELETRÓLITOS AMPLAMENTE UTILIZADOS PARA A OBTENÇÃO DE FILMES DE MULTICAMADAS TIPO LbL.....	46
2.4. AUTO-ASSOCIAÇÃO CAMADA-POR-CAMADA (LAYER-BY-LAYER SELF ASSEMBLY – LBL)	47
2.4.1. Tipos de interação molecular envolvidos no processo de formação das multicamadas.....	49
2.4.2. Mecanismos propostos para o processo de formação das multicamadas.....	55
2.4.2.1. Filmes de multicamadas com crescimento linear	55
2.4.2.1. Filmes de multicamadas com crescimento exponencial	56
2.4.3. Processo de autoassociação das multicamadas nos filmes tipo LbL.....	59
2.4.3.1. Características intrínsecas do polieletrólito	60
2.4.3.2. Método de deposição das multicamadas	60
2.4.4. Panorama atual da importância da técnica de LbL e das diferentes aplicações visadas para esses filmes nanoestruturados	64
3. OBJETIVOS	67
3.1 OBJETIVO GERAL	67
3.1.1 Objetivos Específicos	67
4. MATERIAIS E MÉTODOS	69

4.1 POLIELETRÓLITOS E REAGENTES	69
4.2 MÉTODOS	69
4.2.1. <i>Caracterização das amostras de quitosana [QT] utilizadas obtidas da Aldrich</i>	70
4.2.1.1. Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN- ¹ H): <i>determinação do grau de desacetilação (GD)</i>	70
4.2.2. <i>Obtenção do derivado carboximetilquitosana a partir da quitosana [QT MMM]</i>	71
4.2.2. <i>Caracterização e determinação do grau de substituição do derivado carboximetilquitosana [CMQT]</i>	73
4.2.2.1. Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	73
4.2.2.2. <i>Determinação da Massa Molar Viscosimétrica Média (M_v) do derivado carboximetilquitosana [CMQT]</i>	73
4.2.3. <i>Titulação potenciométrica do derivado carboximetilquitosana [CMQT]</i>	74
4.2.4. <i>Determinação do potencial zeta dos polieletrólitos e titulação da QT e do derivado CMQT monitorada por mudança nos valores de potencial zeta</i>	74
4.2.5. <i>Determinação da viscosidade relativa das soluções de polieletrólitos e dos complexos formados através de viscosimetria capilar</i>	76
4.2.6. <i>Obtenção dos filmes finos de multicamadas utilizando a técnica de autoassociação Layer-by-Layer (LbL)</i>	77
4.2.7. <i>Acompanhamento do crescimento dos filmes multicamadas LbL</i>	80
4.2.7.1. <i>Espectroscopia na região do UV-Visível</i>	80
4.2.7.2. <i>Elipsometria</i>	81
4.2.7.3. <i>Microbalança de Cristal de Quartzo (QCM-D)</i>	83
4.2.8. <i>Análise morfológica dos filmes multicamadas tipo LbL</i>	86
4.2.8.1. <i>Microscopia de Força Atômica (AFM)</i>	86
5.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	88
5.1. CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE QUITOSANA (QT)	89
5.1.1. <i>Determinação do grau de desacetilação das amostras de quitosana por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN¹H)</i>	89
5.1.2. <i>Determinação da Massa Molecular Viscosimétrica (M_v) das amostras de quitosana [QT BMM e QT MMM]</i>	91

5.2. OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO DERIVADO CARBOXIMETILQUITOSANA (CMQT).....	94
5.2.1. Caracterização do derivado CMQT por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN- ^1H).....	94
5.2.2. Determinação do grau de substituição do derivado CMQT por titulação potenciométrica.....	95
5.2.3. Determinação da Massa Molar Viscosimétrica Média (M_v) do derivado carboximetil quitosana [CMQT].....	98
5.3. DETERMINAÇÃO DO PONTO ISOELÉTRICO DOS POLIELETRÓLITOS QT E CMQT MONITORADO ATRAVÉS DOS VALORES DE POTENCIAL ZETA	101
5.4. COMPORTAMENTO VISCOSIMÉTRICO DAS SOLUÇÕES DE POLIELETRÓLITOS E DOS COMPLEXOS FORMADOS EM SOLUÇÃO AVALIADO ATRAVÉS DA VISCOSIDADE RELATIVA.....	102
5.5. EFICIÊNCIA DA TÉCNICA LAYER-BY-LAYER (LBL)	109
5.5.1. Construção das multicamadas monitorada por espectroscopia UV-Vis	110
5.5.2. Construção das multicamadas monitorada por elipsometria	112
5.5.3. Construção das multicamadas monitorada por microbalança de cristal de quartzo (QCM-D)	115
5.6. AUTOASSOCIAÇÃO DE MULTICAMADAS DE CARBOXIMETILQUITOSANA [CMQT] E HIDROCLORETO DE POLI(ALIL AMINA) [PAH] PARA OBTENÇÃO DE FILMES LBL	118
5.6.1. Construção das multicamadas monitorada por elipsometria	119
5.6.2. Construção das multicamadas monitorada por microbalança de cristal de quartzo (QCM-D)	123
5.6.3. Morfologia dos filmes de multicamadas analisada por microscopia de força atômica (AFM).....	127
5.7. AUTOASSOCIAÇÃO DE MULTICAMADAS DE CARBOXIMETILQUITOSANA [CMQT] E QUITOSANA [QT] PARA OBTENÇÃO DE FILMES LBL	132
5.7.1. Construção das multicamadas monitorada por elipsometria	132

5.7.2. Construção das multicamadas monitorada por microbalança de cristal de quartzo (QCM-D)	136
5.7.3. Morfologia dos filmes de multicamadas analisada por microscopia de força atômica (AFM).....	139
6. CONCLUSÕES	147
REFERÊNCIAS	149

1. INTRODUÇÃO

A busca do homem em desvendar os princípios ligados aos diversos processos existentes remonta às primeiras tentativas de controlar os elementos da natureza, como por exemplo o fogo. Esse longo processo de busca tem levado ao desenvolvimento de novos dispositivos que vêm suprir às exigentes expectativas das sociedades vigentes em cada período da História.

Nas últimas décadas muito se tem visto acerca do termo Nanotecnologia; incluindo o incrível nível ao qual o ser humano é capaz de “enxergar” até os possíveis impactos ainda não explorados que ela possa causar. Independentemente das questões que cercam esse tema, é inegável o crescente destaque que o mesmo tem exercido nos diferentes ramos da ciência. Muitos dispositivos atualmente comercializados já incluem essa tecnologia.

O desenvolvimento de novos materiais, em especial materiais compósitos, têm focado cada vez mais no uso de técnicas de engenharia em nível nanométrico tanto com respeito à ciência fundamental quanto à aplicação/uso comercial. Isso é especialmente verdade no ramo de materiais para aplicações biológicas e farmacêuticas nos quais processos como adesão celular e crescimento tissular, transmissão genética ou liberação de agente ativo requerem controle da complexa dinâmica e cinética de transporte (HAMMOND, 2004; KOTOV *et al.*, 2006; ARIGA; HILL; JI, 2007; CARUSO; BECKER, JOHNSTON, 2010).

Dentre os diferentes princípios e processos relacionados à “ciência nanotecnológica”, a técnica da auto-associação camada-por-camada (conhecida como *Layer-by-Layer*, LbL) desenvolvida por Decher e co-autores nos anos 90 (DECHER; HONG; SCHMITT, 1992; DECHER, 1997), é hoje uma ferramenta versátil na obtenção de materiais nanoestruturados de maneira bastante controlada. Essa técnica é usualmente desenvolvida em meio aquoso e envolve tipicamente a adsorção alternada de polieletrólitos de cargas opostas, onde a força motriz para a construção das multicamadas é a compensação das cargas na superfície após a deposição de cada políon.

A possibilidade de fabricar tais filmes finos graças às interações eletrostáticas permite a funcionalização de superfícies de praticamente qualquer tamanho e forma. Além disso, é possível escolher uma

incrível variedade de materiais a serem utilizados, explorando-se diversas combinações dos componentes que formam esses filmes – incluindo ainda uma classe de sistemas híbridos de LbL – que permite a incorporação de nanopartículas metálicas (RUBNER; COHEN; LEE, 2006; PICHON *et al.*, 2011), DNA (JESSEL *et al.*, 2006), compostos terapêuticos (DECHER *et al.*, 2009; HAMMOND *et al.*, 2009; SRIVASTAVA *et al.*, 2011), nanotubos de carbono (CUI; LEE, 2011), etc.

Dentro da área de bioaplicações o uso de polímeros naturais para obter tais estruturas nanométricas pode auxiliar a contornar os problemas usualmente enfrentados com os polímeros sintéticos. A quitosana [QT] é um polissacarídeo bastante conhecido por ser biocompatível, biodegradável e não-tóxico. Sua capacidade de se tornar carregado positivamente em meio ácido tem sido explorada para uma variedade de sistemas do tipo LbL.

No entanto, um dos maiores obstáculos quando se considera utilizar quitosana como material base é a sua solubilidade condicionada ao meio ácido diluído. A modificação química da sua cadeia principal torna-se uma opção atrativa para contornar esse obstáculo, uma vez que esse processo pode alterar suas características intrínsecas, especialmente sua solubilidade. Alguns desses derivados podem apresentar carga ao longo da cadeia polimérica após esse processo químico. A carboximetilquitosana [CMQT] é um desses derivados que pode ser facilmente obtido e utilizado como componente biocompatível (DU; CHEN, 2004; VASHEGHANI-FARAHANI *et al.*, 2009; CHAN-PARK *et al.*, 2005). A similaridade em composição da cadeia estrutural entre a quitosana e sua estrutura modificada pode auxiliar na compatibilidade do sistema formado por esses componentes em nível molecular, somando-se às interações eletrostáticas envolvidas na formação da multicamadas.

A motivação para o desenvolvimento do presente trabalho foi explorar a técnica de auto-associação camada-por-camada como ferramenta para a obtenção de filmes finos de multicamadas nanoestruturadas. A utilização dos polieletrólitos quitosana [QT] e seu derivado carboximetilquitosana [CMQT] em nível molecular para se obter tais nanofilmes LbL aumenta a possibilidade de desenvolver materiais biodegradáveis e biocompatíveis. Esse tipo de combinação pode apresentar propriedades que venham a suprir os requerimentos

de dispositivos para bioaplicação, tais como os de liberação controlada de fármacos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 POLIELETRÓLITOS

Polieletrólitos (também chamados de *poliíons*) são polímeros que, quando dissolvidos em solventes de alta polaridade – como a água –, desenvolvem uma quantidade substancial de cargas (HOAGLAND, 2003). Estas cargas provêm da existência de grupos ionizáveis distribuídos ao longo das unidades monoméricas que compõem sua cadeia macromolecular. As interações eletrostáticas entre grupos ionizáveis, bem como com outros eletrólitos presentes no meio, confere à essa classe de polímeros propriedades distintas daquelas observadas para polímeros neutros.

Com o intuito de auxiliar na compreensão de algumas propriedades observadas pode-se classificar essas macromoléculas quanto ao grau de dissociação dos grupos ionizáveis em solução. O grau de dissociação pode ainda estar associado à *densidade de carga* do polieletrólito em questão. Quando o grau da dissociação dos grupos iônicos depende das condições do meio no qual está dissolvido (como por exemplo, pH ou concentração) tem-se um *polieletrólito fraco*. Quando a densidade de carga da cadeia é relativamente independente das condições da solução tem-se um *polieletrólito forte*.

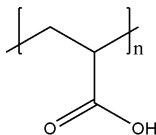
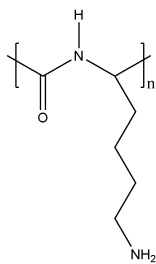
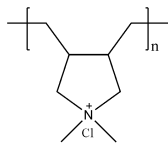
Para um polieletrólito que apresenta simultaneamente ambos os grupos com cargas positivas e negativas na mesma cadeia pode-se denominar este como *polianfótero* (do termo em inglês *polyampholyte*). Semelhantemente às proteínas, essas espécies macromoleculares podem apresentar um *ponto isoelétrico* (*pI*) que corresponde a um valor de pH ou condição da solução onde a densidade de cargas positivas e negativas são iguais. Logo, se comportam como *policátions fracos* em valores baixos de pH ou como *poliânions fracos* em valores altos de pH.

Muitas moléculas biológicas são polieletrólitos (como o DNA – OHNISHI, 1963 – e as proteínas), onde desempenham um grande número de funções importantes. Além desse papel, os polieletrólitos podem ser empregados em grande parte para modificar a reologia de

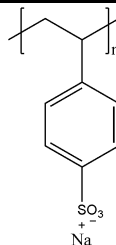
uma solução (COLBY; BORIS, 1998; LONG *et al.*, 2012; ANTONOV; MOLDENAERS, 2012), controlar o processo de agregação de partículas coloidais (PETTERSSON *et al.*, 2000; WILLENBACHER *et al.*, 2002; NOTLEY; GRIFFITH, 2012) ou ainda alterar a natureza de superfícies por adsorção (DUBIN; WANG, 1999; CHUMANOV; MALYNYCH; LUZINOV, 2002). No entanto, os polieletrólitos também podem ser obtidos sinteticamente através da polimerização de monômeros que têm grupos iônicos, ou pela modificação química de polímeros naturais ou sintéticos neutros. Como exemplo pode-se citar a obtenção do poli(estireno sulfonato de sódio) [PSS] através da polimerização do monômero sulfonado de estireno ou através da sulfonação do poli(estireno) [PS].

A Tabela 1 lista alguns exemplos conhecidos de polieletrólitos e sua correspondente estrutura química.

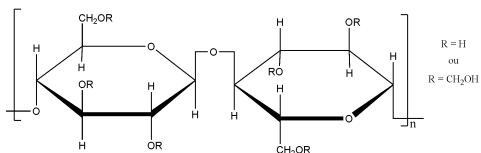
Tabela 1. Exemplos de polieletrólitos

Nome	Unidade de repetição
Polieletrólitos sintéticos	
Poli(ácido acrílico) – PAA	
Poli(lisina) – PL	
cloreto de Poli(dialildimetilamônio) – PDADMA	

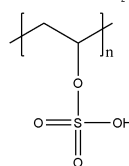
Poli(estireno sulfonato de sódio) – PSS



Carboximetilcelulose – CMC

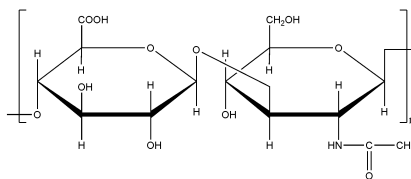


Poli(vinil sulfato) – PVS

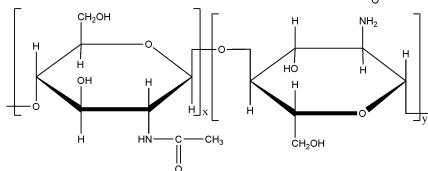


Polieletrólitos naturais

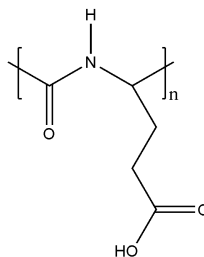
Ácido hialurônico – HA

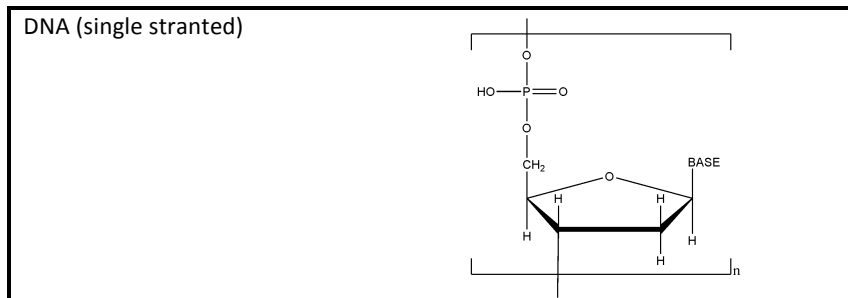


Quitosana – QT



Poli(ácido glutâmico) – PGA





Em um regime diluído uma cadeia isolada de um polieletrólito pode assumir uma conformação expandida em comparação com uma cadeia neutra, considerando-se a repulsão existente entre os segmentos de cadeia que possuem carga similar. A presença de espécies pequenas de outros eletrólitos e contra-íons pode *bloquear* esse efeito de repulsão. Como consequência, a cadeia do polieletrólito inicialmente flexível se contrai conforme a quantidade desses pequenos eletrólitos aumenta. A adição intermitente de uma maior quantidade dessas espécies pode ser suficiente para anular as repulsões entre os segmentos carregados, transformando um bom solvente inicial em um mau solvente. Em uma situação extrema pode ainda ocasionar a precipitação ou coacervação do polímero – processo denominado “*salting out*” (Figura 1).

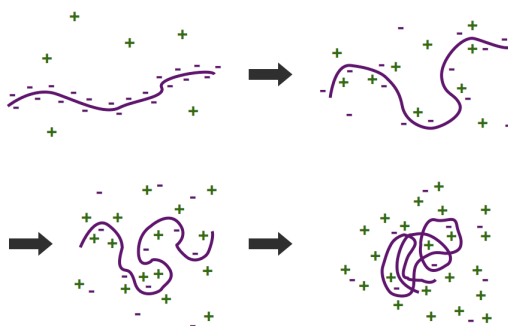


Figura 1. Esquema ilustrativo da precipitação de um polieletrólito com a adição de sal

2.1.1. Adsorção de polieletrólitos

A adsorção de polieletrólitos de uma solução sobre uma superfície sólida envolve diversos fenômenos. De maneira arbitrária, esse processo pode ser analisado assumindo-se um polieletrólito homopolimérico de cadeia flexível interagindo com uma superfície plana e carregada (COHEN STUART *et al.*, 1991). Um dos principais fatores que pode afetar o comportamento dessas macromoléculas e conseqüentemente sua adsorção é a concentração de pequenos eletrólitos adicionados no meio, c_s .

Quando a concentração de eletrólitos (c_s) adicionados é baixa, o processo de adsorção é tipicamente dominado por atração eletrostática, ao passo que para valores altos de c_s esse mesmo processo pode ainda levar em consideração a energia de interação segmento-interface (χ_s) e possivelmente a energia de interação segmento-solvente (χ). Como ilustrado na Figura 2, para valores baixos de c_s , polieletrólitos com baixa densidade de carga em uma solução diluída adsorvem sobre uma superfície carregada ocasionando uma compensação da carga superficial (condição *i*). Nessas condições, a quantidade adsorvida é grande e a camada espessa. Quando o polieletrólito possui uma densidade de carga maior a adsorção ocorre novamente com a compensação da carga superficial, porém a quantidade (e a espessura da camada) adsorvida é menor. Nesse caso, a interação eletrostática entre o polieletrólito e a superfície carregada é maior, fazendo com que uma fração maior de segmentos da cadeia macromolecular interaja com a superfície (condição *ii*).

Ainda para baixos valores de c_s , considera-se que os polieletrólitos não adsorvem sobre uma superfície de mesma carga, pois as repulsões eletrostáticas não são superadas nem mesmo pelos altos valores positivos da energia de contato segmento-superfície (condição *iii*).

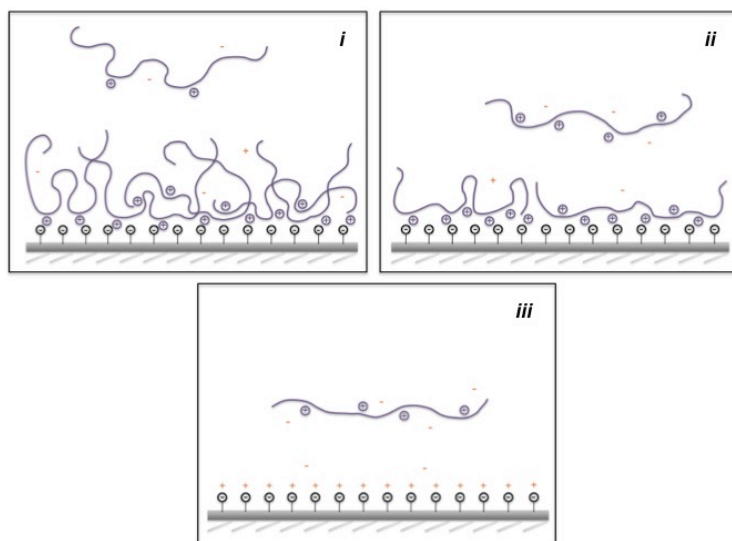


Figura 2. Processo de adsorção superficial de cadeias de polieletrólitos quando a concentração de eletrólito (c_s) no meio é baixa. Condição **i**) polieletrólitos com baixa densidade de carga, **ii**) polieletrólitos com maior densidade de carga e **iii**) polieletrólitos com carga igual à da superfície. Adaptado de HOAGLAND (2003)

Quando a concentração c_s no meio é alta, a adsorção de um polieletrólito com baixa densidade de carga sobre uma superfície ocorre devido à energia positiva de interação segmento-superfície, conforme ilustrado na Figura 3 (condição **i**). A situação é análoga para um polieletrólito semelhante com densidade maior de carga (Figura 3, condição **ii**). Em ambos os casos existe uma considerável neutralização das cargas tornando as interações eletrostáticas praticamente irrelevantes, afetando conseqüentemente a quantidade adsorvida e a espessura da camada.

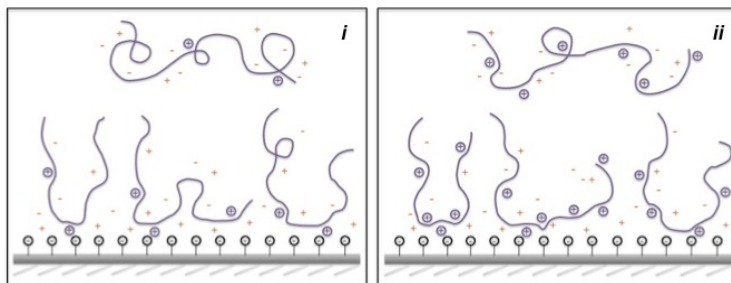


Figura 3. Processo de adsorção superficial de cadeias de polieletrólitos quando a concentração de eletrólito (c_s) no meio é alta. Condição *i*) polieletrólitos com baixa densidade de carga e *ii*) polieletrólitos com alta densidade de carga. Adaptado de HOAGLAND (2003)

Em situações em que a concentração c_s é intermediária, ambas as atrações eletrostáticas (Figura 4, condição *i*) como a energia de interação segmento-superfície (Figura 4, condição *ii*) podem dominar no processo de adsorção de um polieletrólito. Com relação à energia de interação segmento-superfície, é possível que um polieletrólito adsorva a uma superfície de carga semelhante, contanto que as suas cargas fixas (na cadeia) se mantenham posicionadas o mais distante possível da superfície.

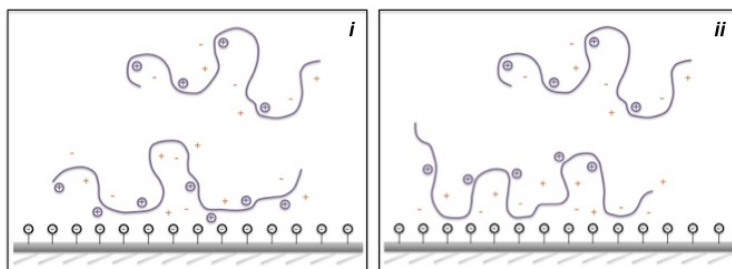


Figura 4. Processo de adsorção superficial de cadeias de polieletrólitos quando a concentração de eletrólito (c_s) no meio é intermediária. Condição *i*) adsorção das cadeias de polieletrólitos dominada pelas atrações eletrostáticas e *ii*) adsorção das cadeias de polieletrólitos dominada pela energia de interação segmento-superfície. Adaptado de HOAGLAND (2003)

Considerando esse fenômeno de adsorção, uma das diversas áreas que tem se valido desse processo está relacionada à estabilização ou desestabilização (*floculação*) de partículas através da adsorção de polieletrólitos sobre partículas coloidais em uma dispersão. A combinação das contribuições configuracional e eletrostática pode fazer com que os polieletrólitos adsorvidos ou ligados modifiquem as forças existentes entre as partículas de diferentes maneiras, conforme demonstrado por GRANT e WALKER (1996) e também por FUCHS e KILLMANN (2001).

Como será discutido em detalhes mais à frente, outra aplicação do fenômeno de adsorção de polieletrólitos que têm mostrado um crescimento expressivo é conhecido como auto-associação camada-por-camada (do termo em inglês *layer-by-layer self-assembly*)(DECHER, 1997; LVOV; DECHER; MOHWALD, 1993; DONATH *et al.*, 1998). Esse método consiste na compensação da carga superficial quando esta é exposta a uma solução contendo polieletrólito de carga oposta. Assim, uma superfície inicialmente carregada negativamente quando em contato com uma solução de polieletrólito *catiônico* – contendo grupos com cargas positivas –, adsorve quantidade suficiente desse polieletrólito para que sua superfície fique carregada positivamente. Essa superfície modificada por sua vez, quando em contato com uma solução de um polieletrólito *aniônico* – contendo grupos com cargas negativas – pode ter sua carga superficial “compensada” (revertida) e se tornar carregada negativamente. A continuidade sequencial desse processo resulta em várias camadas interpenetradas (umas nas outras) mas identificáveis, apresentando propriedades que incluem alta uniformidade e controle preciso da espessura final da camada.

2.1.2. Formação de complexos de polieletrólitos

Considerando que os polieletrólitos são espécies que se comportam simultaneamente como polímeros e eletrólitos, essas macromoléculas representam uma classe de compostos que apresentam propriedades interessantes, dentre elas a capacidade de formar complexos entre polímeros possuindo grupos com cargas opostas – policátions (cargas positivas) e poliânions (cargas negativas)

– devido às interações atrativas do tipo Coulomb (DAUTZENBERG, 2001).

O processo de complexação de polieletrólitos é uma área que envolve uma vasta gama de aplicações. Tipicamente, complexos de polieletrólitos (PEC – do termo em inglês *polyelectrolyte complex*) podem ser espontaneamente formados quando estas espécies são adicionadas a sistemas contendo outras moléculas que também possuem grupos iônicos. Pode-se citar a complexação com outros polieletrólitos de carga oposta (GARDLUND; WAGBERG; GERNANDT, 2003), surfactantes (ASNACIOS; LANGEVIN; ARGILLIER, 1996; WEI *et al.*, 2012), colóides, etc. Ou ainda, formando complexos em combinação com alguma proteína (DUBIN *et al.*, 1992; BOUE *et al.*, 2011; TANG; DUAN; WU, 2012) ou vírus (LE DOUX *et al.*, 2007).

Os complexos de polieletrólitos podem ser diferenciados dos demais complexos formados por moléculas de baixa massa molar devido às interações cooperativas existentes entre os segmentos das cadeias que os primeiros apresentam (PETRAK, 1993). Com a diminuição progressiva da massa molar esse tipo de cooperatividade pode ser perdida e eventualmente a formação de complexos estáveis pode deixar de ocorrer. A mistura de soluções de polications e poliânions leva à agregação espontânea e à liberação dos contra-íons (Figura 5). Essa agregação ocorre devido às interações diretas do tipo *carga-carga* entre os dois polieletrólitos que governam o processo de complexação, bem como o ganho na entropia associado à liberação das espécies pequenas – os contra-íons. No entanto, interações do tipo ligação de hidrogênio (LI *et al.*, 2010; REVEN; FORTIER-MCGILL; TOADER, 2011) ou hidrofóbicas (URZUA *et al.*, 2011) podem resultar também na formação de PECs.

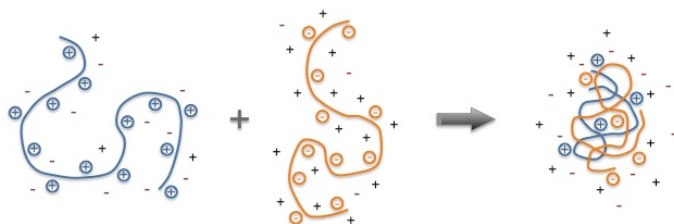


Figura 5. Processo de agregação de dois polieletrólitos com a liberação dos contra-íons

densidade de carga). Durante esse processo de formação e dissociação dos complexos, a densidade de carga do polieletrólito e a força iônica do meio são parâmetros essenciais a serem considerados, além de afetarem as propriedades finais dos mesmos.

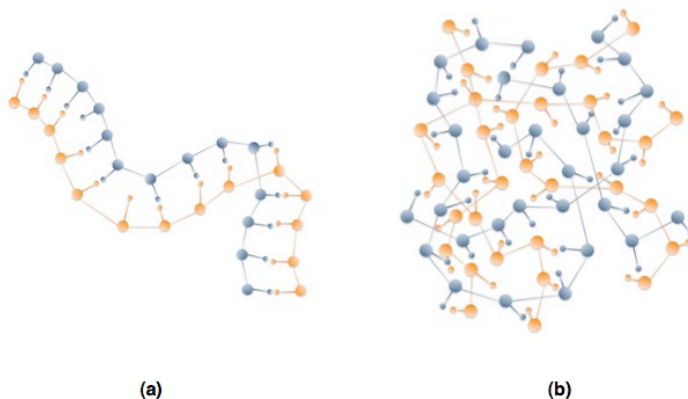


Figura 7. Dois modelos estruturais propostos na literatura por THUNEMAN *et al.* (2004) para os complexos de polieletrólitos (PECs): tipo (a) *escada* – “ladderlike” e (b) tipo *ovos mexidos* – “scrambled egg”

2.2. POLISSACARÍDEOS QUE SE COMPORTAM COMO POLIELETRÓLITOS

Polissacarídeos são polímeros de origem natural formados por unidades residuais de açúcares, na sua maioria hexoses ou pentoses, unidas por ligações glicosídicas (Figura 8). Essa classe de *biopolímeros* apresenta um grande número de grupos reativos em sua cadeia, ampla faixa de massa molecular, grande variedade de composição química, o que contribui para a sua diversidade com relação à estrutura e propriedades. Podem ainda ser classificados quanto à sua função como polissacarídeos *estruturais* (*celulose e quitina*) ou *de reserva* (*amido*). Os polissacarídeos estruturais são polímeros lineares arranjados na forma de fibras e constituem a parede celular de plantas, vegetais e insetos.

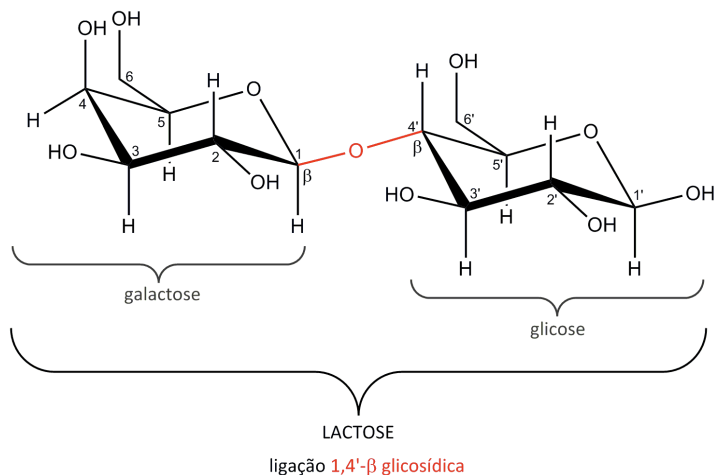


Figura 8. Estrutura química da lactose; um dissacarídeo formado por uma unidade de galactose e outra unidade de glicose unidas através de uma ligação glicosídica

2.2.1. Quitosana [QT]

A quitosana [QT] é um polissacarídeo obtido a partir da reação de desacetilação da quitina e abundantemente encontrado no exoesqueleto de crustáceos e insetos. A desacetilação da quitina consiste na reação de hidrólise dos grupos acetamido utilizando soluções de hidróxido de sódio concentradas (40 %) e temperaturas elevadas. Quando a quitina apresenta grau de desacetilação maior que 50 %, se torna solúvel em soluções ácidas diluídas e passa a ser denominada *quitosana*. (ELIAS, 1984; KAPLAN, 1998)

Estruturalmente a quitosana é um polímero linear de composição variável formado por unidades de 2-amino-2-deoxi-(1,4)-β-D-glicopirranose e 2-acetamido-2-deoxi-(1,4)-β-D-glicopirranose (Figura 9) unidas por ligações do tipo β-1,4, onde *p* e *q* representam a proporção das unidades desacetilada e acetilada distribuídas ao longo da cadeia, respectivamente. A massa molar, pureza e cristalinidade podem variar significativamente dependendo da sua fonte de obtenção.

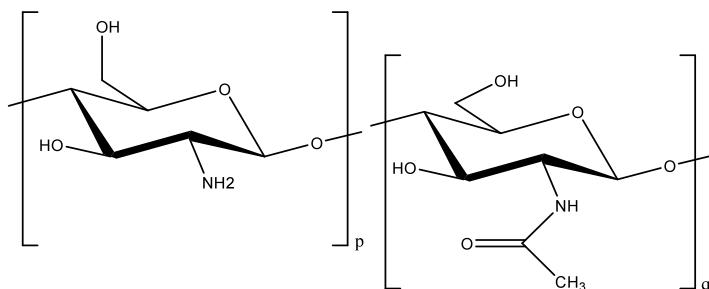


Figura 9. Representação estrutural das unidades de repetição da cadeia macromolecular da quitosana, onde p e q representam as unidades desacetilada e acetilada respectivamente

Devido às propriedades físicas e químicas esse biopolímero tem capacidade de atuar como polieletrólito catiônico, biocompatível, quelante, sendo facilmente convertido em fibras, géis, filmes, etc. (KAPLAN, 1998)

Além disso, por ser um polímero que contém os grupos hidroxila e amina distribuídos de maneira randômica ao longo da sua cadeia polimérica, é capaz de reagir com diferentes compostos para obtenção de materiais enxertados (HUANG *et al.*, 2006) ou reticulados (BEPPU *et al.*, 2007; BEPPU *et al.*, 2008). A presença do grupo amina alifática primária na parte desacetilada da sua cadeia faz com que a quitosana tenha capacidade de reagir facilmente com compostos carbonílicos. Seus derivados têm sido utilizados para diversas finalidades, como mudança na solubilidade (HUA *et al.*, 2011; PARK; CHO; KIM, 2012), afinidade de adsorção (INOUE; YOSHIZUKA; OHTO, 1999; SHARMA; SHELMA, 2011), degradação enzimática (YIN; CUI; TANG, 2012), etc.

Em soluções aquosas, interações eletrostáticas, hidrofóbicas e do tipo ligação de hidrogênio presentes é que facilitam a solubilidade ou o comportamento de agregação dos derivados desse biopolímero. Sabe-se ainda que as interações hidrofóbicas (grupos acetil e anéis glicosídicos) tem um papel importante no mecanismo de formação desses agregados. No entanto, parâmetros como solvatação e interações do tipo repulsão eletrostática entre cadeias adjacentes

presentes nesses derivados podem inibir a formação de agregados (ZHU; YUAN; LU, 2007; ZHU *et al.*, 2005).

Como as macromoléculas de quitosana apresentam alta rigidez (devido às fortes interações intermoleculares e grupo acetamido que limitam a rotação da cadeia) é difícil formar agregados tipo-micela, logo a concentração micelar crítica (cmc) é denotada como *concentração de agregação crítica* (cac). Os valores de *cac* geralmente são muito menores que os valores de cmc para surfactantes comuns devido a elevada massa molar desses derivados poliméricos. Esse parâmetro pode ser determinado experimentalmente por espectroscopia de fluorescência, tensão superficial, viscosidade, microscopia de força atômica, influenciando no desenvolvimento de materiais em escala nanométrica. No processo de formação das multicamadas auto-associadas a concentração polimérica dos polieletrólitos deve estar abaixo da *cac*, para não comprometer a uniformidade de cada camada depositada e garantir que esse procedimentos seja aplicável a superfícies de diversos tamanhos e formas.

Em termos de aplicação, a quitosana tem se tornado ao longo das últimas décadas um dos biopolímeros mais estudados, graças às suas propriedades já citadas e também baixo custo. Além da área biológica, visada principalmente devido à biocompatibilidade existente, a quitosana tem conquistado áreas anteriormente dominadas por polímeros sintéticos convencionais. Dentre essas áreas pode-se destacar a utilização de quitosana para o desenvolvimento de sensores eletroquímicos (GORSKI; ZHANG; SMITH, 2004), sensores para gás (HIEU *et al.*, 2012), células foto-voltaicas (AROF *et al.*, 2007; AROF *et al.*, 2010, AL-BAT'HI; BUHARI; LATIFF, 2012) e como membranas de condução protônica para células a combustível (KHAN; SMITHA; SRIDHAR, 2004; WITT *et al.*, 2010; SHUKLA *et al.*, 2012).

Dentro da área de filmes finos tipo LbL se observa que essa tendência continua, com a quitosana sendo um polieletrólito bastante estudado em combinação com os mais diferentes tipos de componentes, como proteínas (PATIL; MOHANTA; MADRAS, 2012), partículas virais (OGIER *et al.*, 2007), DNA (CAI *et al.*, 2008), complexos metálicos (DA SILVA *et al.*, 2011), nanopartículas metálicas (WANG *et al.*, 2009), materiais inorgânicos (GRUNLAN *et al.*, 2012), etc.

2.2.2. Carboximetilquitosana [CMQT]

Através da modificação química da quitosana com reagente específico, sua hidrofilicidade pode ser alterada. A química desse biopolímero envolve reações características de álcoois e aminas alifáticas primárias. No entanto, por se tratar de uma macromolécula, o mecanismo e a elucidação estrutural completa do produto de reação geralmente são mais complexos do que aqueles previstos para moléculas menores. A introdução de novos grupos na cadeia da quitosana pode afetar a cristalinidade, solubilidade e demais propriedades relacionadas, uma vez que diminui as fortes interações de hidrogênio intra e intermoleculares.

Entre os vários derivados da quitosana, a carboximetilquitosana [CMQT] é um derivado hidrofílico facilmente obtido pela reação com ácido cloroacético e que apresenta propriedades como biocompatibilidade, biodegradabilidade, atividade biológica, baixa toxicidade, etc. Controlando as condições reacionais e reagentes utilizados pode-se obter *N*-, *O*-, *N,O*- ou *N,N*-carboximetilquitosana, onde as propriedades desses derivados vão depender intimamente das suas características estruturais, como grau de substituição e distribuição dos grupos enxertados entre os grupos amino e hidroxil (AN *et al.*, 2009; WANG; WANG, 2008; CAMPANA-FILHO, S. P.; DE ABREU, F. R., 2009).

Condições reacionais homogêneas podem evitar a distribuição não uniforme das unidades substituídas ao longo da cadeia macromolecular, uma vez que a modificação de polissacarídeos é seguida de vários problemas por causa da difícil solubilidade dos reagentes nas mesmas condições. A presença de grupos hidrofóbicos na cadeia da quitosana pode enfraquecer as fortes interações intermoleculares do tipo ligação de hidrogênio, auxiliando na modificação estrutural do polímero (BALABAN; ALVES; VIDAL, 2009).

A carboximetilação da quitosana, para a formação do derivado substituído na posição 6-O da unidade monomérica, ocorre via reação SN_2 através do ataque de uma espécie nucleofílica (Figura 10). A presença de NaOH no meio reacional facilita o ataque da macromolécula polimérica ao carbono α do ácido cloroacético, com a saída simultânea de cloreto (bom grupo de saída) e formação do derivado. O ataque à carbonila do ácido cloroacético não é facilmente

detectado nessas condições, pois a base neutraliza os prótons do ácido cloroacético inativando o carbono da carbonila para a substituição.

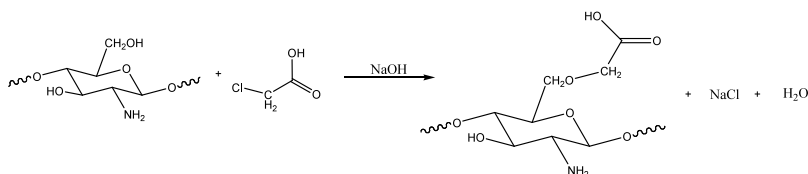


Figura 10. Esquema reacional para a *O*-carboximetilação

Na maioria dos procedimentos experimentais de substituição descritos na literatura ocorre a formação do derivado *N,O*-CMCS (WANG; WANG, 2008; CAMPANA-FILHO, S. P.; DE ABREU, F. R., 2009; EL-SHERBINY, 2009; CHEN *et al.*, 2009). Na presença de base, a substituição na posição 6-O é favorecida em relação à substituição no grupo amino pois o grupo hidroxila é um nucleófilo espacialmente mais disponível para atacar a molécula de ácido nessas condições.

A formação do derivado de quitosana *N*-substituído ocorre através do ataque nucleofílico do par de elétrons do nitrogênio ao carbono α do ácido cloroacético, com eliminação do íon cloreto, que é um ótimo grupo de saída. A formação de HCl resultante desse procedimento pode ser neutralizada com a adição de uma base fraca (NaHCO_3) (Figura 11).

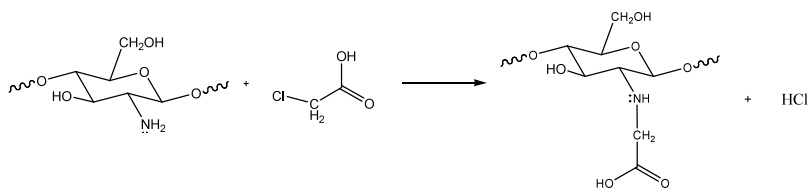


Figura 11. Esquema reacional para a *N*-carboximetilação

A atividade antimicrobiana do derivado *N*-CMCS possibilita sua aplicação na agricultura para inibir o crescimento de fungos (GUO *et al.*, 2006), no tratamento de resíduos industriais devido à sua afinidade por íons (WANG; SUN, 2006), regeneração tissular (SHEU *et al.*, 2006), dentre outras aplicações. As análises termogravimétrica e cinética

feitas por FREITAS *et al.* (2006) mostraram que este derivado apresenta um estrutura termicamente mais estável que a quitosana. Ainda para o derivado *N*-CMCS, foi observado por AN *et al.* (2009) a ocorrência de diss substituição do grupo amino através do ataque subsequente do par de elétrons do nitrogênio da cadeia da quitosana à uma segunda molécula de ácido cloroacético, onde a extensão dessas substituições foi estimada através da técnica de RMN-¹H.

Os derivados do tipo *N,O*- e *O*-carboximetilquitosana são considerados polieletrólitos zwitteriônicos (ou anfóteros), pois dependendo das condições do meio, podem apresentar cargas positivas e negativas distribuídas ao longo da cadeia principal. Essa é uma característica muito importante que direciona sua aplicação. As propriedades físico-químicas dessa classe de polímeros em solução aquosa estão diretamente relacionadas com as interações intra e intermoleculares das regiões hidrofóbicas, uma vez que as regiões hidrofílicas tem maior tendência a hidratar e dissolver em água enquanto os grupos hidrofóbicos tendem a repelir o meio aquoso formando agregados. Vários estudos mostram o comportamento de agregação de ambos os derivados hidrofóbicos e hidrofílicos da quitosana com a concentração polimérica do meio . (ZHU; YUAN; LU, 2007; ZHU *et al.*, 2005; ZHANG; PENG, 2009)

A solubilidade dos derivados CMCS em água vai depender fortemente do grau de substituição. Em pH 7, por exemplo, os grupos amino ($pK_a \approx 6.6$) não estão protonados e os grupos carboxílicos ($pK_a \approx 2.3$) substituídos estão parcialmente dissociados, comportando-se assim como um polieletrólito aniônico fraco nesse meio. A solubilidade pode estar relacionada a três fatores principais: i) menor extensão de ligações de hidrogênio intermoleculares por causa da substituição; ii) grupos carboxílicos dissociados ($-COO^-$) ao longo da cadeia; e iii) ligações de hidrogênio entre as moléculas de água e as cadeias do derivado. (ZHU *et al.*, 2005)

Segundo os estudos de ZHU *et al.* (2005), a causa da agregação do derivado OCMCS ainda não está totalmente esclarecida. Isso porque a substituição não ocorre somente na posição 6-O, mas também na posição 2-O e grupos NH_2 , transformando-a numa molécula não-definida estruturalmente.

2.3. OUTROS EXEMPLOS DE POLIELETRÓLITOS AMPLAMENTE UTILIZADOS PARA A OBTENÇÃO DE FILMES DE MULTICAMADAS TIPO LbL

A criatividade quanto à combinação de polieletrólitos utilizados para a obtenção dessa classe de filmes de multicamadas abrange uma vasta gama de materiais. Dois exemplos tipicamente utilizados desde os primeiros estudos na área de nanofilmes tipo LbL são poli(estireno sulfonato de sódio) [PSS] e poli(alilamina) [PAH]. Esses polímeros serviram como base para a compreensão do processo de formação desses filmes (RAMSDEN; LVOV; DECHER, 1995; KORNEEV *et al.*, 1995; DECHER, 1997).

Estruturalmente, o PSS possui como grupos laterais anéis benzênicos contendo grupos sulfônicos dissociados, o que lhes confere carga negativa quando dissolvidos em água (Figura 12a). Esse polímero é considerado um polieletrólito forte, pois o grau de dissociação dos grupos sulfônicos não depende das condições do meio.

O PAH é um polímero formado por unidades monoméricas de etileno que possuem grupos laterais amina, adquirindo carga positiva quando dissolvido em água (Figura 12b). No entanto, o grau de dissociação do PAH varia conforme as condições do meio, principalmente pH, são alteradas. Logo, é considerado um polieletrólito fraco e esta característica lhe confere a possibilidade de aplicações diferenciadas, graças ao controle desse parâmetro (DELIGOZ; YILMAZTURK; ERCAN, 2012; LISDAT *et al.*, 2011; YOUN *et al.*, 2011).

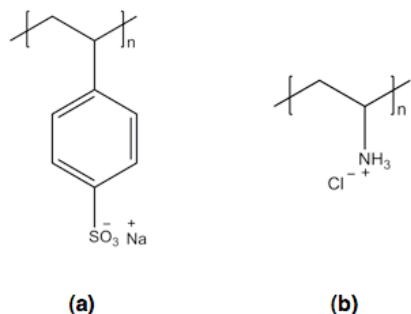


Figura 12. Estrutura química das unidades de repetição da cadeia macromolecular de (a) PSS e de (b) PAH, representando respectivamente poliânion e policátion

A gama de polieletrólitos que têm sido explorados abrange ainda aqueles extensivamente utilizados nas áreas de bioaplicação, como a dextrana (NEU *et al.*, 2012; DONATH *et al.*, 2001), ácido hialurônico (BRETT; BARSAN; PINTO, 2010; LANGER *et al.*, 2004; ZHAN *et al.*, 2012), alginato de sódio (TONG *et al.*, 2006; ZHANG *et al.*, 2012), etc... Existe ainda a possibilidade de se utilizar outros materiais que possuam densidade de carga suficiente para que ocorra a complexação, e consequentemente a formação das multicamadas. Exemplos recorrentes incluem materiais a base de carbono, como nanotubos (KOTOV *et al.*, 2002; de SOUZA *et al.*, 2012) e óxido de grafeno (FENDLER; KOTOV; DÉKÁNY, 1998; SHI *et al.*, 2008), ou ainda nanopartículas metálicas (BRUENING *et al.*, 2004; KOTOV; ANDRES, 2010) e demais nanoestruturas inorgânicas (YANG; ZHANG; EVANS, 2008; GRUNLAN *et al.*, 2012).

2.4. AUTO-ASSOCIAÇÃO CAMADA-POR-CAMADA (*Layer-by-Layer Self Assembly* – LbL)

A funcionalização de uma superfície através da deposição de filmes finos expandiu a possibilidade de técnicas que podem ser utilizadas para esse fim. Dentre elas, destacam-se a deposição química por vapor (*chemical vapor deposition* – CVD) (VAN ENCKEVORT *et al.*, 1993; SNEH *et al.*, 2002; NEGISHI *et al.*, 2011), deposição de filmes finos do tipo Langmuir-Blodgett (LB) (LANGMUIR, 1917; BLODGETT, 1934; BLODGETT, 1935; CASELI; ZANON; OLIVEIRA, 2012) e a auto-associação camada-por-camada (*Layer-by-Layer Self Assembly*). Esta última tem ganho considerável aceitação no meio acadêmico e industrial ao longo dos últimos 20 anos. Foi proposta por Decher e colaboradores no início dos anos 90 e desde então seu impacto positivo pode ser observado através do crescente número de trabalhos relacionados a essa área. A relevância da técnica se deve ao fato desta ser um método robusto para a obtenção de filmes finos nanoestruturados.

O princípio da técnica se baseia nas interações eletrostáticas entre compostos de cargas opostas (contendo grupos aniônicos ou catiônicos) com a deposição alternada de camadas finas dessas espécies. O processo envolve a utilização de um substrato com carga superficial uniformemente distribuída que interage com as espécies

carregadas em etapas consecutivas (Figura 13). A cada etapa ocorre a reversão da carga superficial, sendo essa a força motriz para a deposição da camada seguinte. A reversão de carga superficial para cada etapa da deposição dos polieletrólitos foi demonstrada por LAVALLE *et al.* (2005) durante a construção do filme LbL constituído de ácido hialurônico [HA] e colágeno [COL] $(HA/COL)_n$. Outros autores também reportaram esse mesmo comportamento de reversão de carga superficial para outros pares de polieletrólitos através dos valores de potencial zeta da superfície (VOEGEL *et al.*, 2000; SUKHORUKOV; SHENOY, 2004; ZEMBALA *et al.*, 2007).

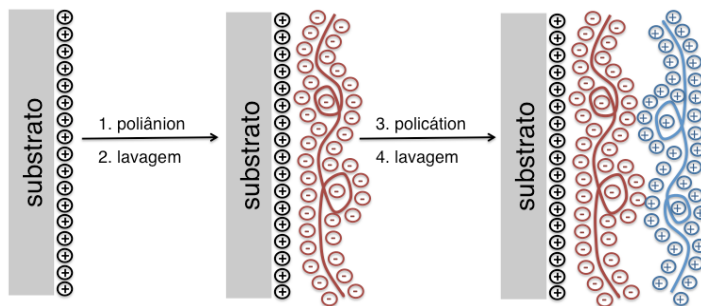


Figura 13. Esquema ilustrativo da formação das multicamadas por atração eletrostática para a obtenção dos nanofilmes tipo LbL

Esta é uma técnica de fácil manipulação usada para obter filmes finos de multicomponentes, onde é possível escolher uma incrível variedade de materiais a serem utilizados. O processo de deposição por atração eletrostática é o método principal de obtenção desses filmes de multicamadas e oferece como vantagens principais:

- a deposição consecutiva camada-por-camada graças à reversão de carga superficial durante cada etapa;
- restrição a uma camada depositada, considerando a repulsão entre esta última camada depositada e o excesso de material presente no meio a cada ciclo;
- deposição em praticamente todo tipo de superfície em contato com o solvente;

- habilidade de se obter facilmente filmes (bio)funcionais de multicomponentes.

CASELI *et al.* (2009) combinaram o uso de quitosana [QT] e poli(estireno sulfonato de sódio) [PSS] para a obtenção de filmes finos de multicamadas tipo LbL. Esta combinação resultou em um sistema com características de atuação eficiente como suporte na síntese de nanopartículas de ouro. Utilizando estes mesmos componentes, ARAVIND *et al.* (2010) obtiveram filmes LbL utilizados na construção de membranas de filtração usadas no tratamento de efluentes industriais.

A similaridade estrutural em nível molecular para se obter filmes desse tipo foi explorada por RUBNER *et al.* (2011), que combinaram quitosana [QT] e carboximetilcelulose [CMC] para a construção das multicamadas. Os filmes LbL (QT/CMC) obtidos exibiram excelentes propriedades antiembaçantes frente a diferentes condições do meio. Foi ainda possível melhorar a estabilidade mecânica e adesão, após reação de reticulação na superfície.

A continuidade de estudos relacionados aos princípios fundamentais envolvidos no processo de obtenção das multicamadas é necessário. Isto auxilia a compreensão do processo de deposição das camadas (complexação na interface), observado para as diferentes combinações de materiais utilizados. Também ajuda a esclarecer a influência dos parâmetros externos e intrínsecos do material que determinam a espessura e as propriedades desses filmes nanoestruturados.

2.4.1. Tipos de interação molecular envolvidos no processo de formação das multicamadas

O conceito principal da técnica LbL para se obter filmes nanoestruturados está na possibilidade de duas moléculas se associarem e se organizarem de maneira controlada. Logo, pode-se estender o conceito inicial de atração eletrostática para outros tipos de interações intermoleculares, conforme ilustrado na Figura 14. Para tanto, leva-se em consideração a natureza química dos compostos envolvidos.

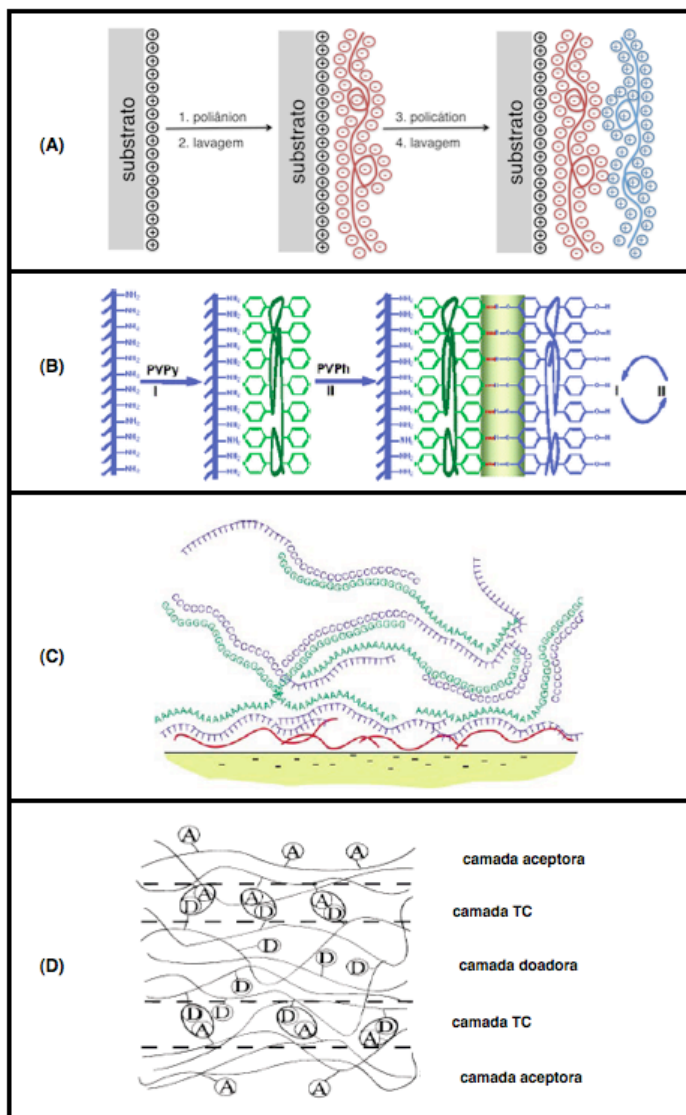


Figura 14a. Esquema ilustrativo dos diferentes tipos de interação que podem originar filmes do tipo LbL. (A) atração eletrostática (DECHER, 1997), (B) ligação de hidrogênio (ZHANG *et al.*, 2004), (C) emparelhamento *base-pair* (CARUSO; JOHNSTON; READ, 2005), (D) transferência de carga (YAMAMOTO *et al.*, 1997)

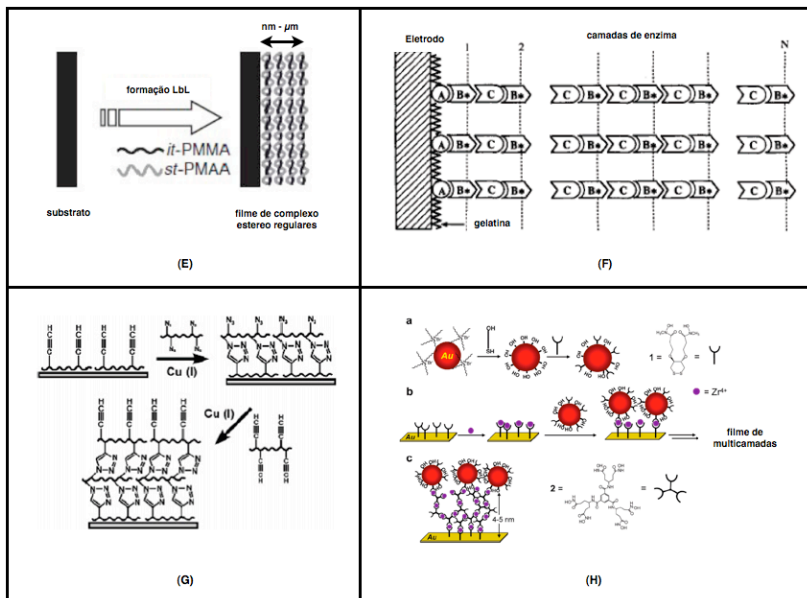


Figura 14b. Esquema ilustrativo dos diferentes tipos de interação que podem originar filmes do tipo LbL. (E) estereoregularidade (AKASHI *et al.*, 2008), (F) hospedeiro-hóspede (BOURDILLON *et al.*, 1994), (G) covalente (*click chemistry*) (CARUSO *et al.*, 2006), (H) coordenação metal-ligante (RUBINSTEIN *et al.*, 2005)

Como processo pioneiro para se obter filmes LbL nanoestruturados, a *atração eletrostática* (Figura 14A) entre componentes de cargas opostas abriu caminho para a combinação dos mais diversos materiais. A cada etapa de deposição desses componentes de cargas opostas ocorre a reversão de carga superficial, garantindo a deposição da camada subsequente. Da literatura pode-se ressaltar a utilização de outros compostos contendo carga superficial, além dos polieletrólitos usualmente utilizados. Isso possibilitou a obtenção de *superestruturas* que combinam a utilização de materiais de natureza diferente, como polímeros e partículas coloidais. Recentemente, DECHER *et al.* (2011) desenvolveram um filme fotocataliticamente ativo composto de nanopartículas de óxido de titânio [TiO_2] combinadas com PSS como um sistema para filtração de gases que causam mau odores. Desde seu início, a obtenção de filmes finos de multicamadas tipo LbL por atração eletrostática permanece o

método mais difundido e utilizado em relação aos demais tipos de interações possíveis.

Materiais que apresentam certa quantidade de grupos com eletronegatividade suficiente e/ou átomos de hidrogênio em sua estrutura, possibilitam que interações do tipo *ligação de hidrogênio* (Figura 14B) passem a ser a força motriz do processo de formação das multicamadas (HAMMOND; KIM; PARK, 2008; HAMMOND *et al.*, 2009). Devido à característica desse tipo de interação, os filmes tipo LbL assim obtidos são capazes de responderem a estímulos do meio como temperatura e pH. Mesmo recente, esse tipo de interação tem ganho território na expansão dessa classe de filmes finos. É possível obter as multicamadas tanto em meio aquoso, quanto orgânico; ou ainda em um processo que envolva a combinação de etapas consecutivas feitas em ambos os tipos de solventes. De maneira análoga, a natureza dos materiais utilizados não se restringe a polímeros, mas sim a basicamente qualquer composto capaz de formar ligações de hidrogênio. COHEN *et al.* (2012) reportaram estratégias adotadas na otimização da obtenção de filmes de multicamadas constituídos de poli(vinil álcool) [PVAL] combinados com poliácidos fracos. Ou ainda, o recente estudo realizado por KHUTORYANSKIY *et al.* que exploraram a utilização de nanopartículas de organosílica modificadas com cadeias de poli(etilenoglicol) [PEG] combinadas com poli(ácido acrílico) [PAA] para a obtenção de filmes de multicamadas associadas por ligação de hidrogênio. Estes filmes apresentam potencial aplicação na área de formulação farmacêutica.

As interações do tipo *emparelhamento (base-pair interaction)* (Figura 14C), como as que ocorrem entre nucleotídeos específicos para formar a fita dupla hélice da molécula de DNA podem ser utilizadas para formação das multicamadas. Essa complementaridade ocorre pela combinação de interações do tipo ligação de H, restrição geométrica devido ao empilhamento dos anéis aromáticos dos pares de bases e também repulsão eletrostática das cadeias negativamente carregadas. É interessante notar que esse tipo de interação possibilita a combinação de componentes de carga similar. CARUSO *et al.* (2006; 2010) têm demonstrado a construção de filmes de multicamadas formados apenas por moléculas de DNA, associadas através das interações entre os pares de bases que compõem os nucleotídeos adenosina [A], citosina [C], guanina [G] e timina [T].

A formação de complexos para subsequente obtenção das multicamadas pode ocorrer também entre compostos sem grupos iônicos presentes na sua estrutura. Quando duas moléculas possuem grupos doadores/receptores de elétrons, por exemplo, as interações do tipo *transferência de carga* (Figura 14D) que daí podem surgir emergem como outra possibilidade para formação das multicamadas (YAMAMOTO *et al.*, 1997; ITO *et al.*, 2001; ROUSE *et al.* 2004).

A regularidade estrutural resultante da interação entre duas moléculas estereoregulares é outro princípio abordado para a obtenção de filmes tipo LbL (AKASHI *et al.* 2001). Este tipo de interação com complexação por *estereoregularidade* (Figura 14E) origina um tipo de arranjo espacial organizado capaz de incorporar outros materiais. SERIZAWA *et al.* (2007) demonstraram a obtenção de filmes de multicamadas formadas pela associação de poli(metacrilato de metila) [PMMA] isotático e sindiotático para reconhecimento de anticorpos.

Pode-se utilizar interações do tipo *hospedeiro-hóspede (host-guest)* (Figura 14F) para a obtenção de filmes de multicamadas tipo LbL. Tais complexos formados por relações estruturais particulares e do tipo não covalente (existentes entre enzima-inibidor e antígeno-anticorpo, por exemplo) são capazes de fornecer filmes nanoestruturados através do *reconhecimento molecular* proveniente desse tipo de interação. Dentre alguns estudos feitos para se obter filmes tipo LbL baseados nesse tipo de interação podemos citar a combinação entre streptavidina e poli(L-lisina) modificado com grupos biotina [PLB] (DECHER; CASSIER; LOWACK, 1998), ou ainda, ciclodextrina combinada com poli(alilamina) contendo grupos ferroceno (SUZUKI *et al.*, 2002).

Reações químicas entre grupos existentes nas camadas subsequentemente depositadas podem ser utilizadas para a obtenção de filmes nanoestruturados tipo LbL (BERGBREITER *et al.*, 2012). Essas interações através de *ligação covalente* (Figura 14G) conferem considerável estabilidade aos filmes obtidos. Mesmo parecendo mais difícil que os demais procedimentos acima citados, as condições reacionais podem ser otimizadas para que essas reações superficiais ocorram de maneira eficiente *in situ*. Assim, pode-se ajustar o processo para contornar algumas restrições como rendimento, controle, contaminação e reatividade da camada superficial. Dentre as diferentes reações empregadas para a obtenção dessa classe de filmes de

multicamadas, pode-se salientar o estudo de Caruso *et al.* (2006) que utilizou a reação tipo *click chemistry* entre cadeias de poli(ácido acrílico) [PAA] funcionalizadas com grupos azida ou alcino para obter filmes de multicamadas. Também pode ser citado o estudo realizado por DECHER *et al.* (2010) utilizando a combinação entre poli(dimetilsiloxano) [PDMS] e poli(etileno-co-anidrido maleico) [PEMA] associados através de ligações covalentes e subsequente obtenção dos filmes tipo LbL.

Outra classe de interações com as quais se obtém filmes nanoestruturados do tipo LbL se enquadra na área de *química de coordenação* (Figura 14H) (RUBINSTEIN *et al.*, 2005). As geometrias específicas de ligação que metais e ligantes adotam dão origem a materiais de multicamadas de estrutura definida. Um exemplo é o estudo realizado por ZHANG *et al.* (2010) no qual obtiveram um filme de multicamadas compostas de PSS-Co²⁺ e poli(4-vinil piridina) [P4VP] associados por coordenação entre metal-ligante, o qual se mostrou promissor quanto à separação de mistura de solventes orgânicos (aromáticos-alifáticos), solvente-água e dessalinização de água.

Além das diferentes interações moleculares aqui descritas, existe uma variedade de substratos que têm sido utilizados para a obtenção dessa classe de filmes. Superfícies lisas, rugosas, esféricas e partículas coloidais têm se mostrado substratos eficientes para a deposição subsequente de camadas. Essa possibilidade está relacionada ao fato que as cadeias poliméricas podem simplesmente alterar sua configuração espacial para se ajustar à topologia de diferentes superfícies.

De maneira geral, não parece existir uma limitação quanto às características do substrato a ser utilizado, contanto que a superfície de interesse seja capaz de formar uma camada inicial do material. Existem estudos que utilizaram como substrato para a deposição das multicamadas: superfície modificada de poli(dimetil siloxano) PDMS (elastômero) (HUSKENS *et al.*, 2006), membrana de poli(éter sulfona) [PES] (TARABARA *et al.*, 2010), membrana de acetato de celulose (PAVASANT; RITCHROEN; PITT, 2008), fibras de madeira (LINGSTROM; WAGBERG, 2008), dentre muitos outros exemplos descritos na literatura.

2.4.2. Mecanismos propostos para o processo de formação das multicamadas

Para a maioria desse filmes o processo de formação das multicamadas ocorre com incrementos semelhantes para cada par poliânion/policación depositado. Nesses filmes, o *crescimento linear* representa geralmente a interação eletrostática entre polieletrólitos fortes, nos quais as camadas individuais estão dinamicamente aprisionadas e fixas na estrutura geral do filme LbL. No entanto, filmes formados entre polieletrólitos fracos geralmente apresentam *crescimento exponencial* com a deposição subsequente das multicamadas. Isso reflete flutuação de densidade de carga e a difusão de algumas espécies de maneira quase livre dentro desses filmes.

2.4.2.1. Filmes de multicamadas com crescimento linear

O *crescimento linear* observado para grande parte dos sistemas formados por polieletrólitos fortes se deve ao excesso de cargas na superfície que surgem a cada etapa do processo de deposição. Nesse caso, os polieletrólitos depositados na camada n interagem principalmente (ou somente) com os polieletrólitos de carga oposta depositados na camada $(n - 1)$. Para a maioria dos sistemas estudados, o incremento na espessura do filme é proporcional ao aumento no número de par de camada depositada (Figura 15).

Uma característica importante observada para essa classe de filmes é a presença de picos de Bragg em experimentos de refletância de nêutrons (DECHER *et al.*, 2009) ou difração de raios-X (LVOV; DECHER; SCHMITT, 1994; SASAKI *et al.*, 2001; DECHER *et al.*, 2005), associados a intervalos de distância (espessura) definidos e que indicam a presença de organização estrutural em nível nanométrico nesses sistemas.

C). Na próxima etapa, o filme entra novamente em contato com a solução de HA formando novos complexos (etapa D) que, além de neutralizar a barreira eletrostática formada anteriormente, promove a reversão da carga superficial. As cadeias remanescentes de PLL presentes na parte interna do filme difundem para fora do filme (etapa D), formando complexos com as cadeias de HA presentes na interface solução/filme. Esses complexos recém formados constituem uma nova camada no topo do filme (etapa E). O processo de deposição de HA para quando não há mais cadeias livres de PLL no interior do filme.

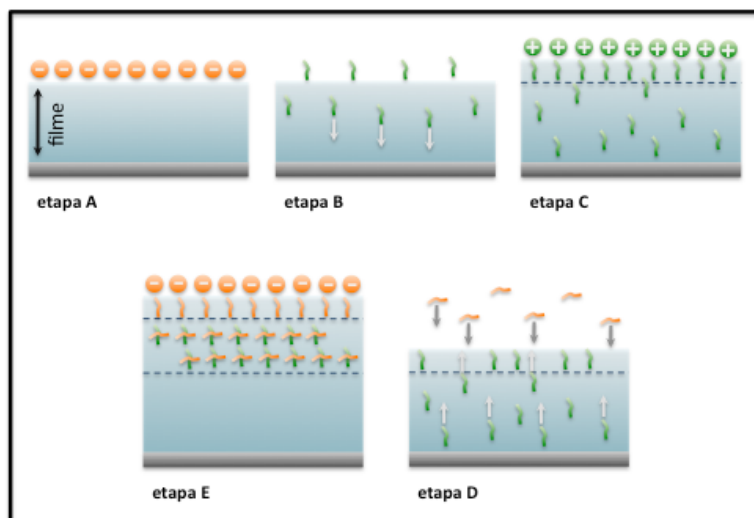


Figura 16. Esquema ilustrativo do mecanismo de crescimento exponencial do filme LbL formado por (HA/PLL)_n

A equação 1 descreve de maneira geral a evolução exponencial da espessura com a deposição das multicamadas. De fato, durante a deposição da *enésima* camada, o incremento de massa $\Delta Q(n)$ no filme corresponde a novos complexos de HA/PLL formados no limite das multicamadas. Esse incremento é então proporcional à quantidade de cadeias livres de PLL presente no filme antes do contato com a solução de HA. Essa quantidade por sua vez é proporcional à espessura do filme e conseqüentemente à massa do filme $Q(n - 1)$ ao final da etapa de deposição $(n - 1)$:

$$\Delta Q(n) = K(n-1) \quad (1)$$

onde K é uma constante. Essa equação corresponde ao aumento exponencial de $Q(n)$. No entanto, considerando que a massa é nula para $n = 0$, esse modelo só se torna válido para n maior que um valor mínimo, n_0 . Logo, a equação acima pode ser reescrita (Equação 2) como:

$$Q(n) = Q(n_0) \exp\left[K(n - n_0)\right], \quad n \geq n_0 \quad (2)$$

No entanto, um filme não cresce indefinidamente seguindo a lei exponencial. Após um dado número de etapas de deposição acaba entrando em um regime *linear* de crescimento. Na verdade, em um tempo determinado de exposição à solução de PLL, as cadeias de PLL conseguem penetrar uma espessura finita do filme. De maneira recíproca, após um tempo determinado de exposição à solução de HA, uma quantidade limitada de cadeias de PLL conseguem difundir para fora do filme para formar os complexos na interface filme/solução. Além disso, mesmo que um número maior de cadeias de PLL pudesse difundir para fora do filme nesse intervalo de tempo, o número de cadeias de HA disponíveis na interface é limitado. O ponto de mudança entre o regime exponencial e linear foi observado, dentre vários autores, por SCHAAF *et al.* (2005). Uma outra abordagem para essa transição pode estar ligada à reestruturação do filme nas primeiras camadas depositadas, fazendo com que essas camadas mais internas (próximas ao substrato) se tornem impermeáveis à difusão das cadeias livres de polieletrólitos. Um estudo recente realizado por SCHONHOFF e BIEKER (2010) relata a transição entre os regimes de crescimento linear e exponencial com as mudanças no valor de pH do meio para multicamadas formadas por polieletrólitos fracos.

Experimentos recentemente realizados por JI e WANG (2009) e também por TSUKRUK *et al.* (2011) sustentam o mecanismo acima proposto com a existência de difusão de espécies para dentro e fora do filme (difusão “*in*” e “*out*”).

Esses dois mecanismos conferem propriedades distintas aos filmes formados. HABERSKA e RUZGAS (2009) verificaram que filmes com crescimento linear compostos de $(PSS/PAH)_n$ preveniram quase totalmente a permeabilidade de pequenas espécies ao longo do filme, sugerindo a formação de uma rede densa e compacta resultante da associação desses polieletrólitos. KEKICHEFF *et al.* (2004; 2005) avaliaram as propriedades viscoelásticas de filmes com crescimento exponencial e linear. Os filmes formados por $(PSS/PAH)_n$ (crescimento linear) apresentam comportamento cristalino, enquanto os filmes formados por poli(L-lisina) [PLL] e poli(L-ácido glutâmico) [PLGA] $(PLL/PLGA)_n$ (crescimento exponencial) apresentaram uma resposta reversível com relação aos ciclos de compressão/retração, indicando o comportamento elástico destes.

As características implícitas provenientes de mecanismos distintos para a formação das multicamadas podem ser sustentadas pela possibilidade de associar esses dois perfis de crescimento para a obtenção de filmes com compartimentos separados. VOEGEL *et al.* (2004) utilizaram os pares de polieletrólitos $(PSS/PAH)_n$ e $(PLL/HA)_n$ associados respectivamente, para obter um filme nanoestruturado com compartimentos distintos. O compartimento com crescimento linear $(PSS/PAH)_n$ servindo de barreira para evitar a difusão ao longo do filme das espécies que formam o compartimento com crescimento exponencial $(PLL/HA)_n$. Esse classe de filmes com vários compartimentos distintamente separados possibilita o desenvolvimento de biomateriais contendo mais de um agente ativo.

2.4.3. Processo de autoassociação das multicamadas nos filmes tipo LbL

Levando em consideração que este é um processo que ocorre na interface e na presença de solvente, o ajuste das condições experimentais adotadas durante a deposição das multicamadas tem relação direta com as suas características finais. Apesar de todas as possibilidades de combinação de componentes e aplicações, a compreensão dos parâmetros físico-químicos envolvidos nem sempre é *imediata*.

2.4.3.1. Características intrínsecas do polieletrólito

É preciso estender as considerações feitas quanto aos diferentes fatores que influenciam a interação das cadeias dos polieletrólitos em *solução* para o procedimento adotado para a obtenção dessa classe de filmes. Conforme mencionado anteriormente, a associação das camadas etapa a etapa ocorre em uma interface líquido/líquido, qualquer que seja o método de deposição escolhido. Assim, espera-se que fatores como concentração, força iônica, tempo de contato e procedimento de deposição afetem o processo de auto-associação.

Além desses fatores, as propriedades intrínsecas dos materiais utilizados têm influência importante nesse processo. Considerando a formação de complexos entre espécies com carga superficial, a diferença na massa molar das cadeias poliméricas (WINNIK *et al.*, 2005; WONG; DIEZ-PASCUAL; RICHTERING, 2009; RICOTTI *et al.*, 2009) ou ainda a natureza dos materiais não-poliméricos utilizados (COHEN *et al.*, 2011; GRUNLAN *et al.*, 2011), podem determinar a espessura e também as propriedades finais dos filmes obtidos.

SCHLENOFF e GHOSTINE (2011) avaliaram a influência da temperatura e força iônica no transporte de cianeto de ferro (III) $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ através de um filme de multicamadas composto de cloreto de poli(dialildimetilamônio) [PDADMA] e poli(estireno sulfonato) de sódio [PSS]. Constataram que o coeficiente de difusão dessa espécie aumentou significativamente com o aumento da temperatura e da força iônica, demonstrando a influência dos diversos parâmetros envolvidos.

2.4.3.2. Método de deposição das multicamadas

Com o desenvolvimento da área de filmes finos tipo LbL, surgiram também maneiras (aparatos) diferentes para a execução do processo de deposição das multicamadas. Considerando a potencialidade da aplicação desse processo a nível industrial, muitos dos procedimentos recentes foram desenvolvidos visando máxima eficiência (tempos curtos e grandes áreas superficiais).

O método pioneiro denominado “*imersão*” foi introduzido no início dos anos 90, quando os primeiros artigos relataram a obtenção de filmes finos de multicamadas nanoestruturados do tipo LbL (DECHER; HONG; SCHMITT, 1992; DECHER 1997). Nesse processo o substrato é imerso na solução de polieletrólito para obtenção da camada $n = 1$. O tempo de contato entre o substrato e essa solução precisa ser suficiente para permitir adsorção efetiva das cadeias de polieletrólito. A etapa seguinte de lavagem permite que o material fracamente adsorvido seja removido da superfície. A partir desse ponto tem-se a superfície homogeneamente carregada, o que permite a adsorção da camada seguinte ($n = 2$) através da imersão do substrato na solução do polieletrólito de carga oposta. Os procedimentos de adsorção, lavagem e imersão subsequente do substrato na solução de carga oposta são repetidos (de maneira cíclica) até que o número desejado de camadas (n) seja obtido (Figura 17). Nesse processo, a eficiência da deposição e qualidade final do filme de multicamadas são influenciadas por fatores como tempo de imersão, tempo de lavagem, concentração dos polieletrólitos, força iônica, temperatura, etc.

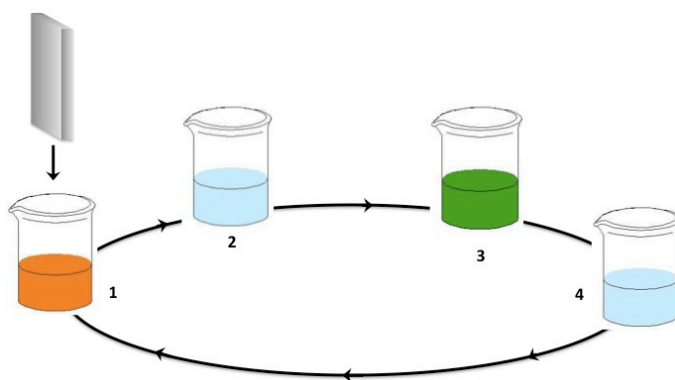


Figura 17. Esquema ilustrativo do processo cíclico de formação das multicamadas LbL pelo método de imersão. Onde 1 refere-se a solução do poliânion, 2 e 4 à etapa de lavagem com água e 3 à solução do policátion

Esse método (*imersão*) é o mais utilizado para a obtenção desses filmes devido à facilidade de se construir o aparato necessário. Mesmo sendo utilizado com êxito para uma variedade de materiais,

pode apresentar algumas desvantagens, principalmente quando o propósito do filme é algum tipo de bioaplicação. Nesse caso, o tempo requerido para a adsorção das espécies pode ser muito longo (compostos que possuam cinética de adsorção lenta), oferecendo risco de desnaturação ou degradação das espécies envolvidas. Ou ainda, a contaminação da solução de lavagem devido à dessorção de material da superfície ou demais fatores externos.

As alternativas ao método de imersão incluem processos hidrodinâmicos, onde a deposição dos materiais ocorre com um transporte de massa aprimorado através de um processo de convecção induzida (tanto pelo movimento do substrato ou da solução).

Um desses métodos é a deposição das multicamadas com o auxílio de um aparelho que possui um aparato de alta rotação (*spin coater*). Esse aparato permite que substrato seja submetido a altas velocidades de rotação enquanto a solução de polieletrólito é injetada no centro da amostra (Figura 18).

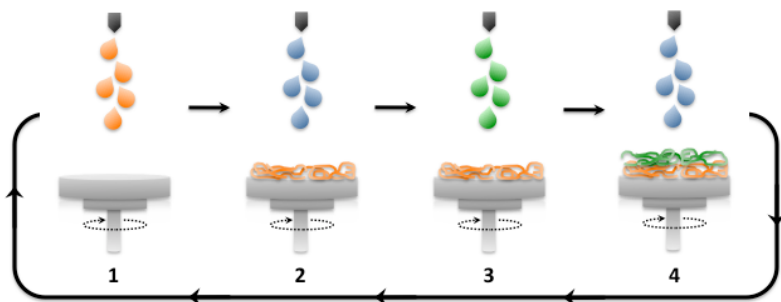


Figura 18. Esquema ilustrativo do processo cíclico de formação das multicamadas LbL pelo método de *spin* (alta rotação). Onde 1 refere-se a solução do polianion, 2 e 4 à etapa de lavagem com água e 3 à solução do policátion

A alta rotação do substrato forma uma fina camada de líquido que, graças à ação da força centrífuga e do fluxo de cisalhamento, faz com que o material adsorva sobre o substrato em segundos. Entre as vantagens da técnica está a diminuição considerável no tempo de adsorção, uma vez que o contato entre o substrato e a solução ocorre apenas durante alguns segundos. Além disso, o volume de amostra

requerida para a deposição de cada camada é menor e pode ser facilmente controlado, havendo diminuição considerável na quantidade de amostra drenada (perdida) da superfície. É reportado na literatura que filmes LbL obtidos por esse método de deposição apresentam estruturação (VOZAR *et al.*, 2009) e a espessura pode ser controlada por parâmetros como velocidade angular de rotação (HALL; UNDERHILL; TORKELOSON, 1998) tempo de rotação do substrato (GU; BULLWINKEL; CAMPBELL, 1996) e taxa de evaporação do solvente (WALSH; FRANCES, 2003).

Alternativamente ao processo descrito acima (*spin*), a deposição das multicamadas pelo método de *spray* envolve a aspersão das soluções de maneira perpendicular sobre um substrato fixado verticalmente (Figura 19). Desde os estudos iniciais até os dias atuais, os ajustes feitos no aparato utilizado para o *spray* levaram em consideração fatores como distância, ângulo do cone do spray, tempo, volume e taxa de spray. Podem ser utilizadas garrafas pressurizáveis (*air pump spray cans*), pistolas de pintura (*paint gun*) ou ainda sistemas de spray automatizados com os quais é possível controlar de maneira precisa a pressão, volume, taxa de spray.

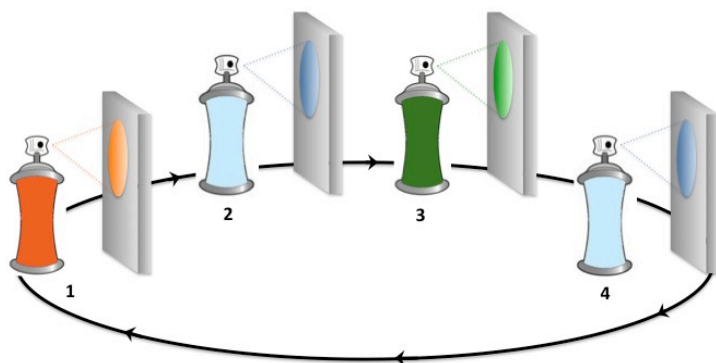


Figura 19. Esquema ilustrativo do processo cíclico de formação das multicamadas LbL pelo método de spray. Onde 1 refere-se a solução do polianion, 2 e 4 à etapa de lavagem com água e 3 à solução do policátion

Em geral para um determinado número de camadas (n), a espessura dos filmes obtidos por spray é menor que dos filmes obtidos por imersão (DECHER *et al.*, 2005) pois parte do material fracamente

adsorvido é drenado da superfície durante a etapa seguinte de lavagem. A diminuição na espessura pode também estar relacionada à redução no tempo de contato entre substrato-solução de polieletrólito, bem como efeitos de cisalhamento causados pela ação do jato do spray. Conforme reportado por DECHER *et al.* (2009) os filmes obtidos pelo método de spray também apresentaram estruturação nanométrica das multicamadas depositadas.

Mesmo considerando a consequência do efeito físico do jato de spray sobre o superfície do filme, existem trabalhos na literatura que reportam a utilização (além de polieletrólitos) de vesículas (SCHAAF *et al.*, 2005), micelas de co-polímeros em bloco (PARK; HONG, 2011), agente ativo (fármaco) (SUNG *et al.*, 2005) e até mesmo células (JESSEL *et al.*, 2008) como componente dos filmes de multicamadas tipo LbL.

Em comparação com o método de imersão, os métodos de *spin* e *spray* apresentam como desvantagem a perda de grande parte do material durante o processo de deposição devido à força centrípeta ou drenagem do líquido por gravidade, respectivamente. No entanto, a redução significativa do tempo de deposição e facilidade de operação dos aparatos experimentais envolvidos faz com que esses dois métodos garantam um lugar de destaque na área de filmes LbL.

Existe ainda a possibilidade de combinar simultaneamente os métodos de *spray* e *spin* para a obtenção de filmes de multicamadas LbL, conforme relatado por SUN e MERRILL (2009). Esse método foi utilizado para obter filmes LbL compostos dos pares cloreto de poli(dialildimetilamônio) [PDDA] e Laponite (argila) (PDDA/Laponite)_n ou (PDDA/CF)_n (*carbon nanofiber* - nanofibra de carbono).

2.4.4. Panorama atual da importância da técnica de LbL e das diferentes aplicações visadas para esses filmes nanoestruturados

Quando uma determinada técnica ganha destaque no meio científico abrangendo diferentes áreas, nota-se a capacidade do ser humano em reorganizar e readaptar conceitos anteriormente estabelecidos na tentativa de elucidar problemas atuais. Como exemplo pode-se citar a descoberta da vulcanização da borracha por Goodyear, em 1839, que possibilitou que a borracha anteriormente com limitada aplicação se tornasse em um material indispensável até

os dias de hoje. Assim como outras técnicas que expandiram a visão do homem como descobridor é possível que a técnica aqui estudada também tenha seu impacto positivo a ser considerado.

Um levantamento bibliográfico feito na base de dados do ISIS, realizado recentemente de maneira criteriosa pelo grupo do professor Decher, contabilizou mais de 6.000 artigos desde as primeiras publicações até o ano de 2010 relacionados ao tema *Layer-by-Layer self-assembly*. O número de publicações relacionadas a essa técnica mostra um crescimento exponencial ao longo das duas décadas desde os primeiros estudos, conforme relata o gráfico (Figura 20).

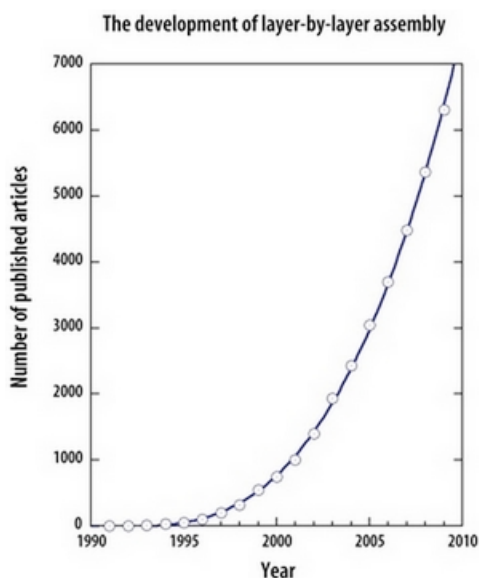


Figura 20. Gráfico que representa o panorama do crescimento do número de trabalhos publicados na área de LbL ao longo das últimas duas décadas. FONTE: <http://www-ics.u-strasbg.fr/spip.php?rubrique157>)

Ao longo dessa trajetória, desde os primeiros trabalhos publicados até os dias atuais, é notória a otimização que diversos dispositivos mostraram devido ao uso desta técnica. Graças à nanoestruturação existente e à capacidade de combinar multicomponentes, dispositivos utilizados para liberação de agentes ativos têm se mostrado cada vez mais eficientes. DECHER *et al.* (2009)

desenvolveram um sistema complexo composto de nanopartículas de Au recobertas com diferentes compartimentos nanoestruturados sucessivamente depositados. Esse sistema tipo *core-shell* foi simultaneamente carregado com proteína, fármaco, agente de contraste de maneira nanoestruturada com potencial aplicação no tratamento de câncer.

Conforme descrito até o presente momento, a relevância da técnica LbL no cenário científico atual se torna atrativa como tópico base deste trabalho. A obtenção de dados inéditos e a tentativa de esclarecer os eventos observados pode auxiliar futuros estudos relacionados à utilização dessa técnica aplicada à combinação de diferentes materiais biodegradáveis.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O trabalho de tese teve como objetivo geral explorar a técnica Layer-by-Layer [LbL] para obter e caracterizar filmes finos de multicamadas autoassociadas, utilizando diferentes polieletrólitos.

3.1.1 Objetivos Específicos

- Caracterizar as amostras de quitosana [QT] quanto ao grau de desacetilação (GD) e massa molar viscosimétrica média (M_v);
- Modificar a quitosana de média massa molar [QT MMM] e caracterizar o derivado carboximetilquitosana [CMQT] obtido;
- Avaliar a viscosidade relativa [η_{rel}] das amostras de quitosana, da carboximetilquitosana e dos complexos formados pela combinação desses polieletrólitos;
- Obter e investigar a influência de parâmetros experimentais no procedimento de autoassociação dos filmes de multicamadas LbL formados por poli(estireno sulfonato de sódio) e quitosana (PSS/QT)_n;
- Acompanhar o crescimento dos filmes LbL formados por (PSS/QT)_n através de espectroscopia UV-Vis e elipsometria;
- Obter e investigar a influência de parâmetros experimentais no procedimento de autoassociação e morfologia dos filmes de multicamadas LbL formados por carboximetilquitosana e poli(alilamina) (CMQT/PAH)_n;
- Obter e investigar a influência de parâmetros experimentais no procedimento de autoassociação e morfologia dos filmes de multicamadas LbL formados por carboximetilquitosana e quitosana (CMQT/QT)_n;
- Acompanhar o crescimento dos filmes LbL formados por (CMQT/PAH)_n ou (CMQT/QT)_n por elipsometria e avaliar a morfologia desses filmes por microscopia de força atômica (AFM).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 POLIELETRÓLITOS E REAGENTES

Os polieletrólitos poli(etileno imina) [PEI] ($MM = 25.000 \text{ g mol}^{-1}$), quitosana de baixa massa molar [QT BMM], quitosana de média massa molar [QT MMM] e hidrocloreto de poli(alilamina) [PAH] ($MM = 15.000 \text{ g mol}^{-1}$ e $MM = 56.000 \text{ g mol}^{-1}$) foram utilizados como policação. Poli(estireno sulfonato de sódio) [PSS] ($MM = 70.000 \text{ g mol}^{-1}$) foi utilizado como poliânion. Todos esses polímeros, bem como acetato de sódio [NaOAc], cloreto de sódio [NaCl], hidróxido de sódio [NaOH], ácido clorídrico [HCl], ácido acético [HOAc], isopropanol e ácido monocloroacético [MCA] foram adquiridos da Aldrich e utilizados sem purificação prévia.

O derivado carboximetilquitosana [CMQT] foi obtido a partir da modificação química da quitosana [QT MMM] seguindo procedimento descrito na literatura (PARK e CHEN, 2003) e utilizado como poliânion. Todas as soluções foram preparadas utilizando água mili-Q ou água destilada como solvente.

A concentração de cada uma das soluções dos polieletrólitos, bem como o valor do pH e força iônica do meio serão detalhados na discussão dos resultados para cada sistema LbL estudado. Isso porque a influência desses parâmetros foi avaliada de maneira distinta em cada caso.

4.2 MÉTODOS

Parte do presente trabalho foi desenvolvido nas dependências do Instituto Charles Sadron (Estrasburgo/França) durante o período de bolsa *sanduíche* (realizado entre set/2009 – ago/2010). Os demais procedimentos e análises foram desenvolvidos nas dependências no Grupo de Estudo em Materiais Poliméricos (POLIMAT) na Universidade Federal de Santa Catarina (Florianópolis).

4.2.1. Caracterização das amostras de quitosana [QT] utilizadas obtidas da Aldrich

A caracterização das duas amostras de QT utilizadas nesse trabalho permite obter a média do tamanho das cadeias macromoleculares envolvidas no processo de associação das camadas, bem como a quantidade de grupos ionizáveis presentes.

4.2.1.1. Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio ($RMN^{-1}H$): determinação do grau de desacetilação (GD)

A ressonância magnética nuclear (RMN) é uma propriedade que determinados núcleos apresentam quando estão sob um campo magnético e pulso eletromagnético aplicado. Esses núcleos absorvem energia desse pulso, radiando essa energia em uma frequência de ressonância específica que depende do campo magnético e do ambiente químico desse núcleo. Logo, essa técnica dá informações a respeito dos compostos através dos deslocamentos químicos, intensidade relativa dos sinais e constantes de acoplamento.

As análises provenientes desta técnica possibilitarão caracterizar e determinar o grau de desacetilação das duas amostras de quitosana utilizadas; de baixa massa molar [QT **BMM**] e de média massa molar [QT **MMM**].

A aquisição dos espectros dessas amostras de quitosana foi feita na Central de Análises do Departamento de Química da UFSC em um Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear 400 MHz (modelo AS 400, Varian) a 25 °C. As amostras foram dissolvidas a uma concentração de 20 mg mL⁻¹ em uma mistura D₂O/HCl (10:1 v/v) como solvente.

4.2.1.2. Determinação da Massa Molar Viscosimétrica Média (M_v) das amostras de quitosana [QT]

A viscosidade de um polímero é a resistência ao escoamento que as moléculas sofrem devido à fricção interna causada tanto pelo tamanho das cadeias como pelo enovelamento entre elas. É uma técnica que pode ser utilizada para a determinação da massa molar viscosimétrica média (M_v) de uma amostra de polímero, utilizando-se

soluções diluídas do mesmo. Sob estas condições, o sistema polimérico pode se comportar como um líquido newtoniano (a viscosidade independe das condições de deformação), e assim, as condições de baixa tensão e velocidade de cisalhamento permitem a determinação da viscosidade limite do fluido, denominada viscosidade intrínseca $[\eta]$. (LUCAS; SOARES; MONTEIRO, 2001)

A massa molar viscosimétrica média (M_v) das amostras de quitosana ([QT **BMM**] e [QT **MMM**]) foi determinada pelo método viscosimétrico, utilizando capilar tipo Ostwald. Para os respectivos cálculos foi utilizada a equação de Mark-Houwink, com valores definidos de K e α que consideram o grau de desacetilação dessas amostras. Seguindo o estudo reportado por RINAUDO *et al.* (2001), foi utilizado como solvente uma solução aquosa de ácido acético 0,2 mol L⁻¹ contendo acetato de sódio [NaOAC] numa concentração de 0,2 mol L⁻¹.

Primeiramente foram preparadas soluções de QT **BMM** e QT **MMM** a uma concentração de 5,0 g mL⁻¹, que foram em seguida filtradas sob gravidade. A partir dessas soluções concentradas foram preparadas por diluição soluções numa faixa de concentração de 0 – 3,2 mg mL⁻¹.

Cada amostra de solução a uma determinada concentração foi imersa em um banho termostatizado a 25,0 ± 0,1 °C por cinco minutos antes de realizar as medidas. A média das cinco medidas de tempo de escoamento para cada amostra foram feitas utilizando-se um viscosímetro capilar SCHOTT com unidade de medida AVS 350 (sensor AVS/SHT) imerso em um banho termostatizado (termostato CT 52 da SCHOTT) a 25,0 ± 0,1 °C.

4.2.2. Obtenção do derivado carboximetilquitosana a partir da quitosana [QT **MMM**]

O procedimento utilizado para a reação de modificação química da cadeia de quitosana [QT **MMM**] é semelhante ao procedimento descrito por PARK e CHEN (2003). Primeiramente, 5 g de quitosana foram transferidas para um balão (250 mL) contendo 50 mL de uma solução concentrada de NaOH (40 % m/m) a 60 °C. Essa mistura foi mantida sob agitação mecânica a 1000 rpm por 1 h,

conforme ilustrado na Figura 21. A temperatura foi mantida em 60 °C com o auxílio de uma manta térmica.

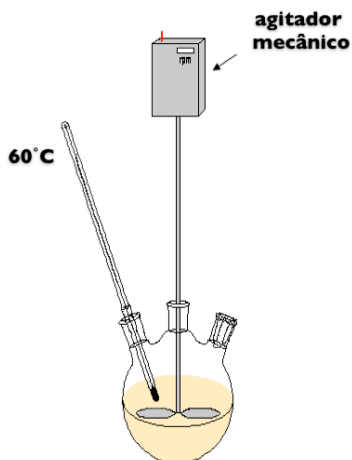


Figura 21. Esquema ilustrativo que representa o procedimento experimental para a obtenção do derivado CMQT

Separadamente, foram adicionados em um béquer 15 g de ácido monocloroacético [MCA] em 20 mL de isopropanol e mantidos sob agitação magnética até completa solubilização do MCA. Essa solução foi transferida gota a gota ao meio reacional (Figura 21), durante cerca de 20 min. A mistura foi mantida sob agitação a 60 °C durante 4 h. Após esse período, foram adicionados ao meio 100 mL de uma solução etanol/água 70 % (v/v) e mantido sob agitação por mais 10 min. O meio reacional foi então filtrado sob gravidade e o sólido resultante foi lavado progressivamente com soluções etanólicas mais concentradas (70; 80; 90 e 98 % v/v). O sólido resultante foi mantido sob vácuo a temperatura ambiente para secagem durante 24 h, antes das análises de caracterização. O produto resultante desse procedimento é o derivado carboximetilquitosana na sua forma de sal de sódio [NaCMQT].

4.2.2. Caracterização e determinação do grau de substituição do derivado carboximetilquitosana [CMQT]

A análises estruturais do produto obtido permitem avaliar se o procedimento de carboximetilação produziu o derivado CMQT. A determinação da massa molar viscosimétrica média (M_v) permite obter a média do tamanho das cadeias poliméricas e também prevê a integridade dessas cadeias após a modificação química. O comportamento desse derivado em função dos valores de pH do meio dão informação quanto à solubilidade do derivado bem como a quantidade de grupos ionizáveis presentes.

4.2.2.1. Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

De maneira semelhante ao que foi descrito no item 4.2.1.1, a técnica de RMN será utilizada para caracterizar a formação do derivado CMQT obtido após a modificação química da QT.

A aquisição dos espectros da amostra de CMQT foi feita na Central de Análises do Departamento de Química da UFSC em um Espectrômetro de Ressonância Magnética Nuclear 400 MHz (modelo AS 400, Varian) a 25 °C. A amostra foi dissolvida a uma concentração de 20 mg mL⁻¹ em D₂O como solvente.

4.2.2.2. Determinação da Massa Molar Viscosimétrica Média (M_v) do derivado carboximetilquitosana [CMQT]

A massa molar viscosimétrica média (M_v) do derivado CMQT foi determinada pelo método viscosimétrico, utilizando capilar tipo Ostwald. Os valores de $[\eta]$ foram obtidos a partir da equação do método *One-Point* e também a partir coeficiente angular do gráfico de η_{esp}/C versus C . Utilizando os valores de $[\eta]$ obtidos, os valores de massa molar do derivado CMQT foram calculados a partir da equação de Mark-Houwink com valores pré-definidos de K e α (ZHAI *et al.*, 2007). Para tanto, foi utilizado como solvente uma solução aquosa de cloreto de sódio [NaCl] em uma concentração de 0,1 mol L⁻¹.

Primeiramente a solução de CMQT foi preparada na concentração de 5,0 g mL⁻¹, sendo em seguida filtrada sob gravidade. A

partir dessa solução concentrada foram preparadas por diluição soluções numa faixa de concentração de 2 – 5 mg mL⁻¹.

Cada amostra (solução a uma determinada concentração) foi imersa em um banho termostatizado a $25,0 \pm 0,1$ °C por cinco minutos antes de realizar as medidas. A média das cinco medidas de tempo de escoamento para cada amostra foram feitas utilizando-se um viscosímetro capilar SCHOTT com unidade de medida AVS 350 (sensor AVS/SHT) imerso em um banho termortatizado (termostato CT 52 da SCHOTT) a $25,0 \pm 0,1$ °C.

4.2.3. Titulação potenciométrica do derivado carboximetilquitosana [CMQT]

O grau de substituição e comportamento do derivado carboximetilquitosana [CMQT] em solução foi avaliado baseando-se em procedimentos reportados na literatura (GE; LUO, 2005; WANG; WANG, 2008). Para tanto, dissolveu-se 200 mg do derivado CMQT em 40 mL de água destilada. O pH dessa solução foi ajustado para valor menor que 2, adicionando-se algumas gotas de solução aquosa concentrada de HCl. A solução de CMQT foi então titulada com uma solução aquosa de NaOH 0,1 mol L⁻¹, previamente padronizada. Os valores de pH e voltagem (mV) foram simultaneamente registrados utilizando um pHmetro digital portátil da Gehaka Ind. e Com. Ltda. A solubilização do derivado CMQT e a titulação foram realizadas em banho termostatizado a $25,0 \pm 0,1$ °C.

O grau de substituição (GS) foi calculado a partir do volume de NaOH utilizado, obtido de uma região específica do gráfico de pH *versus* volume de base (método da segunda derivada). O resultado final corresponde à média de três experimentos realizados.

4.2.4. Determinação do potencial zeta dos polieletrólitos e titulação da QT e do derivado CMQT monitorada por mudança nos valores de pontecial zeta

Teoricamente, o potencial zeta (ζ) de uma solução coloidal está relacionado ao potencial elétrico na interface entre a *dupla camada* (uma camada de cargas provenientes dos grupos ionizáveis fixos no *objeto/partícula* e outra camada formada por íons fracamente

associados provenientes da solução) em um local específico do plano de cisalhamento hidrodinâmico e um ponto arbitrário do fluido distante dessa interface. De maneira resumida, é a diferença de potencial entre o meio dispersante e a camada fixa do fluido ligado à superfície do *objeto* disperso. Esta propriedade depende não somente da superfície do *objeto/partícula* mas também do meio no qual está disperso, podendo ser afetado pelo pH ou força iônica do mesmo.

Para determinar o valor do potencial zeta das soluções dos polieletrólitos foi utilizado o equipamento Malvern Zetasizer 3000 HS locado no Instituto Charles Sadron (ICS, Estraburgo/França). A concentração da solução de cada polieletrólito é semelhante à concentração utilizada para a deposição das multicamadas.

Cada solução de polieletrólito foi transferida para uma cubeta de poliestireno apropriada e colocada adequadamente no equipamento. Um laser (fonte de luz) incide sobre a amostra que contem as partículas sofrendo espalhamento decorrente da interação com essas partículas, no ângulo de 17° . Quando um campo elétrico é aplicado através da amostra, as partículas carregadas em suspensão são atraídas para o pólo de carga oposta. Esse movimento das partículas afeta a quantidade de luz espalhada, que é detectada e convertida em um valor numérico.

Esse equipamento foi também utilizado para acompanhar a variação dos valores do potencial zeta da solução de polieletrólito em função da variação do pH do meio. Para tanto foi utilizado um titulador automático modelo MPT-2 Autotitrator da Malvern acoplado ao Zetasizer.

Inicialmente a QT ou o derivado CMQT foram dissolvidos em soluções padrão de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ou NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente. As concentrações de polieletrólito utilizadas foram as mesmas utilizadas para a obtenção dos filmes de multicamadas. Essas soluções foram tituladas adicionando-se quantidades específicas de titulante (solução padrão de NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ou solução padrão de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$). Os respectivos valores de potencial zeta e pH do meio foram registrados e plotados em um gráfico de potencial zeta *versus* pH. A varredura dos valores de pH ocorreu na faixa entre 2 – 9 para ambos os polieletrólitos.

4.2.5. Determinação da viscosidade relativa das soluções de polieletrólitos e dos complexos formados através de viscosimetria capilar

Foram preparadas soluções dos polieletrólitos QT **MMM**, QT **BMM** e CMQT em uma concentração de $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$. Essas soluções foram filtradas sob gravidade e determinado volume dessas soluções tiveram o pH (6,0; 6,0 e 6,5, respectivamente) e força iônica ($0,15 \text{ mol L}^{-1}$) ajustados. A partir dessas duas condições acima descritas, foram preparadas outras soluções por diluição.

A viscosidade relativa das soluções foi avaliada na faixa de concentração de $0,1$ a $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$. Para tanto, foi utilizado um viscosímetro capilar SCHOTT com unidade de medida AVS 350 (sensor AVS/SHT) imerso em um banho termotatizado (termostato CT 52 da SCHOTT) a $25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$. O capilar utilizado foi do tipo Ostwald.

A consideração de *tempo corrido* (min) foi feita através de 10 medidas consecutivas e ininterruptas do tempo de escoamento dessas soluções. O *tempo zero* para as soluções dos polieletrólitos (imersas em banho termostatizado a $25,0^\circ\text{C}$ durante 2 min) foi considerado a partir do início da primeira medida (1) de escoamento detectada pelo sensor. Para os complexos de CMQT/QT, o tempo zero foi considerado a partir do momento em que misturou-se volumes iguais das duas soluções de cargas opostas em um béquer sob agitação. Essa mistura foi rapidamente transferida para o capilar, que permaneceu em banho termostatizado a 25°C até o tempo corrido de 2 min antes do início das medidas.

A partir daí, as demais medidas foram feitas ininterruptamente com as soluções retornando à posição inicial com o auxílio de uma bomba acoplada ao sensor eletrônico. Cada vez que a mesma solução era detectada ao passar pelo ponto inicial e final de escoamento (viscosímetro capilar) foi anotado paralelamente o tempo relacionado. Com os valores de tempo de escoamento para cada solução de polieletrólito e para os complexos formados foram calculadas as viscosidades relativas $[\eta_{\text{rel}}]$ e também seu comportamento (estabilidade) em função do *tempo corrido* de análise.

Nessa análise, foram também consideradas a influência dos parâmetros pH e força iônica do meio nos valores de $[\eta_{\text{rel}}]$ dos polieletrólitos e dos complexos.

4.2.6. Obtenção dos filmes finos de multicamadas utilizando a técnica de autoassociação *Layer-by-Layer* (LbL)

Os substratos utilizados para a deposição das multicamadas foram placas de silício (orientação 100 e espessura 0,5 mm, adquiridos da WaferNet Inc., Sao Jose, EUA) ou de quartzo. Ambos os substratos foram pré-tratados antes da deposição dos polieletrólitos para formação dos filmes tipo LbL.

Primeiramente esses substratos foram lavados com acetona para retirar o material orgânico (impurezas) presente na superfície. Foram então lavados extensivamente com água mili-Q e secos com jatos de ar comprimido. Em seguida, foram submetidos a um tratamento com plasma (Harrick Plasma, Ithaca NY) por 3 min em potência média, que ativa a superfície do substrato deixando-a homogeneamente com cargas negativas.

Para as análises de AFM, os substratos de Si foram semelhantemente lavados com acetona, água e secos com jatos de ar comprimido. Em seguida, foram imersos em uma solução de HCl/MeOH (1:1 v/v) por 30 min, sendo imediatamente transferidos para um béquer contendo H_2SO_4 concentrado por mais 1 h, que ativa igualmente essas superfícies com cargas negativas.

Antes de utilizar essas substratos para a deposição dos polieletrólitos, os mesmos foram extensivamente lavados com água mili-Q ou destilada e secos com jatos de ar comprimido. Para a deposição das multicamadas utilizou-se os métodos de imersão, spray ou ainda spray acoplado com um sistema de alta rotação (*spin coater*).

No método de imersão o substrato ativado foi primeiramente mergulhado em uma solução de PEI durante 10 min. Em seguida foi realizado um procedimento de lavagem em duas etapas: imersão do substrato em um frasco contendo água mili-Q por 5 min, seguido de outra imersão em um segundo frasco contendo água mili-Q por mais 5 min. Após essa última lavagem em água, o substrato foi seco com jato de ar comprimido e a espessura do filme depositado foi então determinada no elipsômetro. Esse procedimento (PEI; água; água) recobre a superfície uniformemente deixando-a com carga superficial positiva. No presente trabalho, a camada de PEI foi depositada apenas

uma vez, não sendo considerada como parte da estrutura do filme LbL depositado em seguida.

Dando continuidade ao processo de deposição das camadas seguintes, o substrato foi imerso na solução de poliânion (CMQT ou PSS) durante 15 min. A lavagem do substrato é feita imergindo-o em água mili-Q durante 5 min. Esse procedimento é feito em duplicata e em frascos distintos. Em seguida o substrato é seco com jato de ar comprimido e a espessura do filme depositado é novamente determinada no elipsômetro. Esse procedimento (poliânion; água; água) recobre a superfície uniformemente deixando-a com carga superficial negativa. Para finalizar a deposição de um par de camadas (PC), o substrato é em seguida imerso na solução de policação (QT ou PAH) durante 15 min. A etapa de lavagem é a mesma já descrita acima (imersão em água mili-Q durante 5 min, realizada duas vezes consecutivas em frascos distintos). O substrato foi então seco com jato de ar comprimido e a espessura do filme depositado foi determinada no elipsômetro. Esse procedimento (policação; água; água) recobre a superfície uniformemente deixando-a com carga superficial positiva.

Essa sequência de imersões foi cuidadosamente repetida até que o número de pares de camadas (PC) desejado fosse alcançado (conforme ilustrado na Figura 16). Ao final do processo, obteve-se os filmes de multicamadas compostos dos pares $(PSS/QT)_n$; $(CMQT/PAH)_n$ e $(CMQT/QT)_n$.

No método de spray foram utilizadas garrafas comerciais do tipo *pumpsprayer* AirBoy, adquiridas da Carl Roth GmbH+Co (Karlsruhe, Alemanha). Essas garrafas foram utilizadas para armazenar as soluções de polieletrólitos e água mili-Q. O substrato foi fixado de maneira vertical num anteparo devidamente posicionado. Uma primeira camada de PEI foi depositada, aspergindo a solução desse polieletrólito sobre o substrato durante 10 s. Esse substrato foi então imediatamente lavado com água mili-Q por mais 10 s e seco com jato de ar comprimido para leitura da espessura no elipsômetro.

Para o filme composto de $(PSS/QT)_n$, o tempo de aspersão da solução de cada poliion e também da água (lavagem) foi de 10 s. Para os demais filmes LbL compostos por $(CMQT/PAH)_n$ e $(CMQT/QT)_n$ o tempo de aspersão das soluções para a deposição de cada poliion e da água de lavagem foi de 5 s. No entanto, para o método de spray foi incluído um período de espera de 10 s entre a etapa da deposição do

polieletrólito e a etapa de lavagem (polieletrólito 5 s; 10 s de espera; lavagem 5 s). Após esse procedimento, o substrato foi seco com jato de ar comprimido e a espessura do filme depositado foi determinada no elipsômetro. A sequência de deposição dos polieletrólitos para a obtenção das multicamadas foi similar ao procedimento de imersão: (poliânion; água; secagem; medição da espessura) seguido de (policátion; água; secagem; medição da espessura).

Essa sequência de aspersões (*spraying*) foi cuidadosamente repetida até que o número de pares de camadas (PC) desejado fosse alcançado (conforme ilustrado na Figura 18). Ao final do processo, obteve-se os filmes de multicamadas compostos dos pares (PSS/QT)_n; (CMQT/PAH)_n e (CMQT/QT)_n.

O terceiro método de deposição das multicamadas estudado utilizou o método de spray acoplado a um sistema de alta rotação (*spray-spin*). Para tanto, foram utilizadas as mesmas garrafas de spray acima citadas e um equipamento *spin coater* modelo WS-650-15 da Laurell Technologies Corporation, EUA (Figura 22).

O substrato foi fixado adequadamente no anteparo do equipamento e então submetido à rotação de 10.000 rpm. As soluções e água (lavagem) foram aspergidas com o substrato em movimento. A metodologia e ordem da deposição dos polieletrólitos durante o procedimento foram os mesmos descritos para o sistema de spray. Os tempos de aspersão das soluções de polieletrólito, espera e lavagem para a etapa (poliíon 5 s; espera 10 s; lavagem 5 s) foram também similares. A primeira camada depositada foi PEI, seguida da lavagem do substrato, secagem com jato de ar comprimido e leitura da espessura do filme depositado por elipsometria. Subsequentemente, foi depositada a camada de poliânion (5 s; espera 10 s; lavagem 5 s; secagem; medição da espessura) seguida da camada de policátion (5 s; espera 10 s; lavagem 5 s; secagem; medição da espessura). Ao final dessa etapa tem-se a formação de um par de camadas (PC) do filme.

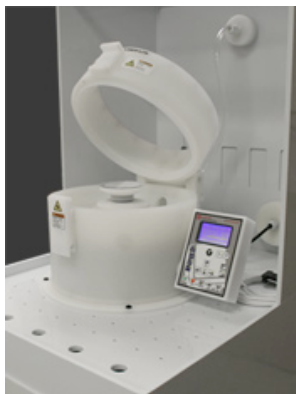


Figura 22. Foto do aparelho spin-coater modelo WS-650-15, utilizado para a deposição das multicamadas pelo método denominado *spray-spin*

Essa sequência de aspersões (*spraying*) sobre o substrato em movimento (alta rotação) foi cuidadosamente repetida até que o número de pares de camadas (PC) desejado fosse alcançado (conforme ilustrado nas Figuras 18 e 19). Ao final do processo, obteve-se os filmes de multicamadas compostos dos pares $(PSS/QT)_n$; $(CMQT/PAH)_n$ e $(CMQT/QT)_n$.

4.2.7. Acompanhamento do crescimento dos filmes multicamadas LbL

Dentre as diferentes técnicas que podem ser utilizadas como recurso para acompanhar a deposição de cada camada, destacam-se técnicas ópticas como a elipsometria, *optical waveguide lightmode spectroscopy* (OWLS) (VAN TASSEL; NGANKAM, 2005) e microbalança de cristal de quartzo (QCM-D) (KUNITAKE *et al.*, 1995) ou ainda técnicas espectroscópicas como ultravioleta (DECHER *et al.*, 2011) e infravermelho (YANG *et al.*, 2002). Algumas dessas técnicas permitem ainda avaliar o comportamento do sistema de polieletrólitos durante o crescimento do filme.

4.2.7.1. Espectroscopia na região do UV-Visível

A espectroscopia de absorção na região do UV-Visível é uma técnica que está relacionada a alterações na estrutura eletrônica de determinadas moléculas. A energia absorvida quantizada diz respeito a

passagem do elétron no seu estado fundamental para o estado excitado. Essa técnica é muito utilizada para identificar a presença bem como quantificar a concentração de uma(s) substância(s) em solução que absorva(m) essa radiação, sendo matematicamente expressa pela Lei de Lambert-Beer (equação 3):

$$A = -\log\left(\frac{I}{I_0}\right) = \varepsilon \cdot c \cdot L \quad (3)$$

Onde: A – absorbância medida

I_0 – intensidade de luz incidente em um determinado número de onda (ν_{\max})

I – intensidade transmitida pela amostra

L – caminho óptico percorrido pela amostra

ε – absorptividade molar da substância

c – concentração da amostra (mol L^{-1})

Os espectros de UV-Vis foram utilizados para monitorar a deposição das multicamadas através dos valores de absorbância em função do número de camadas depositadas. Para tanto, os filmes foram depositados sobre uma placa de quartzo (substrato), pré-tratado de maneira semelhante ao substrato de Si (item 4.2.6). Foi utilizado o valor de absorbância relativo ao número de onda (ν_{\max}) das espécies absorventes que formam os filmes LbL. As medidas foram feitas em um espectrofotômetro modelo Cary 500 (Varian, faixa de varredura de 900 – 3300 nm), locado no Instituto Charles Sadron (Estrasburgo – França).

4.2.7.2. *Elipsometria*

É uma técnica de análise óptica bastante sensível, quantitativa e não destrutiva, que pode ser utilizada para determinar as propriedades de um material a partir das características da luz refletida por sua superfície isotrópica refletora. A sua aplicação mais importante é o estudo de filmes finos, abrangendo desde essencialmente a espessura zero até milhares de Angstrons (ou ainda, alguns micrometros). (AZZAM; BASHARA, 1977).

O princípio da técnica é a incidência de uma radiação eletromagnética (feixe de luz monocromático) em um polarizador que produz luz de polarização conhecida e controlada. Esse feixe interage com a amostra e tem seu estado de polarização alterado, sendo medido por um segundo polarizador e um fotodetector (Figura 23).

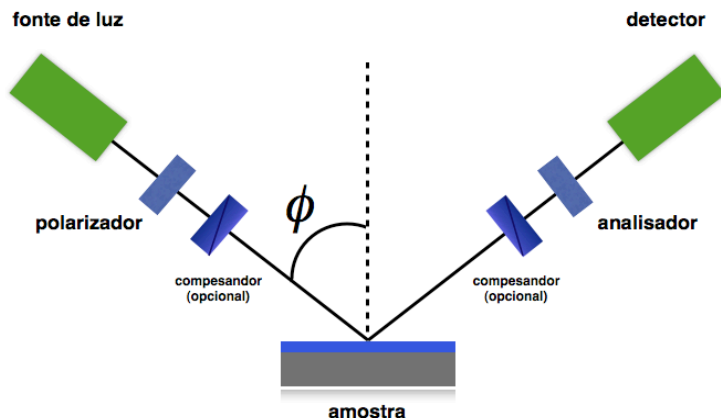


Figura 23. Esquema ilustrativo dos componentes ópticos e eletrônicos de um elipsômetro

Quando essa amostra sofre alguma mudança (como por exemplo, espessura), então as suas propriedades de reflexão também mudarão. Assim, medindo essas mudanças nas propriedades de reflexão é possível deduzir a alteração final na espessura do filme.

As mudanças de fase (Δ) e de amplitude (ψ) da radiação após a reflexão são medidas com relação à radiação incidente. Δ e ψ dependem do comprimento de onda da radiação (λ), do ângulo de incidência (ϕ), da espessura (D) e do índice de refração (η) de um filme isotrópico e refletor, como mostrado na relação fundamental da elipsometria (AZZAM; BASHARAM, 1977):

$$tg(\psi)e^{i\Delta} = f(\eta, D, \phi, \lambda) \quad (4)$$

A partir da relação entre as variáveis mostradas acima (4), das relações de Drude e Fresnel, de cálculos iterativos e matrizes de Jones (AZZAM; BASHARAM, 1977) pode-se obter η e D independentemente. Porém, quando as espessuras das camadas são muito finas (≈ 1 nm) ou quando o contraste óptico não é suficiente para que D e η sejam obtidos independentemente um do outro, usa-se o índice de refração fixo a partir de dados da literatura e determina-se a espessura (D) do filme.

A espessura das multicamadas auto-associadas secas foram medidas utilizando-se um elipsômetro modelo PLASMOS SD 2300 no comprimento de onda de 632,8 nm (laser He-Ne) e ângulo de incidência de 70°. Para os sistemas de polieletrólitos, o índice de refração dos filmes foi assumido como sendo constante ($\eta = 1,465$) considerando estes filmes uniformes e isotrópicos. Para cada ponto dos gráficos (espessura *versus* número de camadas) as medidas de espessura foram feitas de maneira aleatória em dez diferentes regiões da superfície do substrato de Si.

4.2.7.3. Microbalança de Cristal de Quartzo (QCM-D)

Essa técnica consiste em medir pequenas variações de massa por unidade de área através da mudança nos valores da frequência (f) de ressonância de um cristal de quartzo. Essa ressonância é perturbada pela adição ou remoção de pequenas quantidades de massa devido à formação de um filme sobre a superfície de um ressonador acústico.

O princípio da técnica de QCM se baseia na propriedade piezoelétrica do quartzo, e a relação entre voltagem aplicada e deformação mecânica que permite sondar uma ressonância acústica por meios elétricos. Aplicando-se corrente alternada entre os eletrodos conectados ao cristal de quartzo em condições específicas, o aparelho de QCM é capaz de gerar a frequência de ressonância no cristal de quartzo e monitorá-la de maneira bastante precisa (1 Hz).

Existe uma dependência entre frequência de oscilação e a espessura do cristal de quartzo. Logo, uma mudança na espessura correlaciona diretamente uma mudança na frequência. Quando uma certa quantidade de material é depositada na superfície do cristal, sua espessura aumenta causando uma diminuição na frequência de oscilação do cristal. Para um filme fino rígido adsorvido na superfície, a

mudança na frequência de ressonância (Δf) pode ser correlacionada a uma certa quantidade de massa (Δm) utilizando a equação (5) de Sauerbrey (SAUERBREY, 1959),

$$-\Delta f = \frac{2f_o^2}{A(\rho_q \mu_q)^{1/2}} \times \Delta m = C \times \frac{\Delta m}{v} \quad (5)$$

Onde: f_o – frequência inicial da QCM (9×10^6 Hz)
 A – área do eletrodo ($0,159 \text{ cm}^2$)
 ρ_q – densidade do quartzo ($2,65 \text{ g cm}^3$)
 μ_q – modulo de cisalhamento ($2,59 \times 10^{11} \text{ dyn cm}^2$)
 v – número do harmônico
 C – constante de sensibilidade mássica ($C \approx 17,7 \text{ ng cm}^{-2} \text{ Hz}^{-1}$ a $f = 5 \text{ MHz}$ em ar)
 m – ng cm^{-2}

Além da mudança na frequência, alguns aparelhos de QCM permitem acompanhar as alterações nos valores de dissipação do cristal. A dissipação é um parâmetro utilizado para quantificar o amortecimento do sistema (cristal e amostra), podendo ser relacionado às propriedades viscoelásticas (estruturais) do material depositado. Um filme flexível e viscoso vai dissipar energia (através da perda por atrito dentro do filme) fazendo com que a oscilação do cristal seja amortecida. Por exemplo, quando um material compacto é adsorvido, os valores de dissipação são pequenos (filme rígido) enquanto materiais mais flexíveis são adsorvidos os valores de dissipação são maiores (Q-SENSE, 2011).

A Figura 24 ilustra a diferença no comportamento da frequência e dissipação durante a deposição de um material (flexível ou rígido) sobre o cristal de quartzo. Em (A) observa-se a diminuição na frequência de oscilação do cristal causada pelo aumento da espessura do filme.

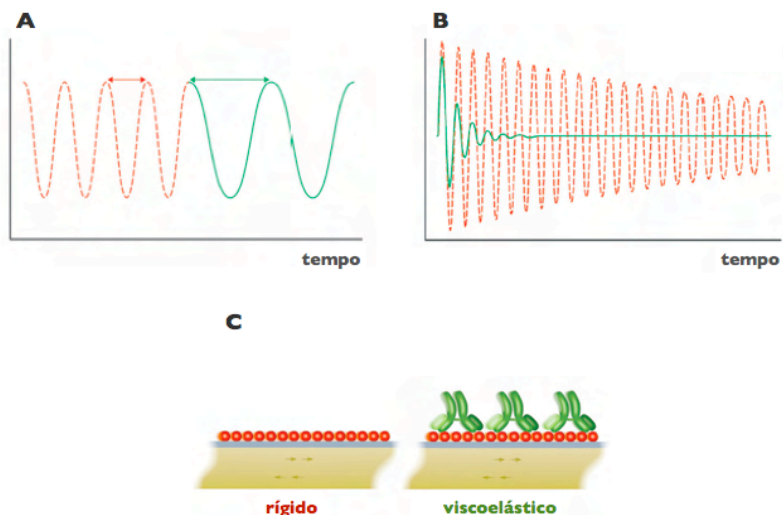


Figura 24. Esquema ilustrativo do processo de deposição de material sobre a superfície do cristal na microbalança (QCM). Em (A) está representado a alteração na frequência; linha vermelha indica o início, e a linha verde após a deposição. (B) e (C) representam a alteração na dissipação; a linha vermelha indica um sistema rígido, e a linha verde um sistema viscoelástico. FONTE: Q-SENSE (2012)

A dissipação, por sua vez, é acompanhada quando a voltagem aplicada é interrompida, causando uma diminuição na oscilação do sistema (energia sendo dissipada). Essa taxa de decaimento está relacionada às propriedades de elasticidade e viscosidade do material depositado no cristal. Em (B) e (C) vemos o comportamento de oscilação quando um material rígido (linha vermelha) ou um material flexível (linha verde) é depositado sobre o cristal. Diversos dos estudos citados nesse trabalho reportam a utilização dessa técnica para o monitoramento da formação das multicamadas.

Para medidas realizadas em meio líquido, após excitar o cristal na sua frequência fundamental (5 MHz) em contato com água pura, os sinais são monitorados no quinto harmônico (correspondendo a 25 MHz).

A deposição das multicamadas foi monitorada *in situ* utilizando-se um sistema de microbalança de cristal de quartzo equipada também com leitura de dissipação (Dissipation Enhanced

Quartz Crystal Microbalance – QCM-D) da Q-Sense (Göteborg, Suécia). A superfície adsorvente do eletrodo consiste de um filme de ouro evaporado o qual é pré-tratado de maneira similar ao substrato de silício (descrito no item 4.2.6). A primeira camada para todos os filmes analisados foi formada injetando-se 700 μL de solução de PEI e lavada duas vezes com o mesmo volume de água pura. Uma nova injeção foi feita apenas após a estabilização dos sinais de frequência e dissipação. Para a construção das multicamadas dos sistemas $(\text{CMQT/PAH})_n$ e $(\text{CMQT/QT})_n$, uma solução de NaCl* foi injetada duas vezes (700 μL cada vez) e utilizada como solução de lavagem nesse experimento. Subsequentemente, um volume similar das soluções de poliânion e polication foram injetadas, alternadas por duas etapas de lavagem com solução 0,15 mol L^{-1} de NaCl. A sequência da deposição das multicamadas foi igual àquelas descritas no item 4.2.6.

* Com exceção das camadas de PSS e PAH (solução de lavagem NaCl 0,50 mol L^{-1}), as demais camadas (CMQT e QT) foram lavadas com solução NaCl 0,15 mol L^{-1} .

4.2.8. Análise morfológia dos filmes multicamadas tipo LbL

4.2.8.1. Microscopia de Força Atômica (AFM)

A superfície dos filmes LbL tem sido investigada, dentre diferentes técnicas, por microscopia de força atômica (AFM) (PICART *et al.*, 2001). A análise da morfologia superficial desses filmes obtidos com controle nanométrico fornece informações importantes quanto à estrutura e propriedades superficiais.

O princípio fundamental da técnica de microscopia de força atômica (AFM) é a medida das deflexões de uma sonda causada pelas interações entre essa sonda e a superfície da amostra (BINNING; QUATE; GERBER, 1986). A interação sonda-amostra é monitorada por um laser que incide sobre a haste da sonda e reflete para dois pares de foto-detecores, resultando em uma imagem que fornece uma ampla gama de informações (conforme ilustrado na Figura 25). Essas imagens são resultado da varredura da sonda sobre uma determinada área da amostra e referem-se fundamentalmente à distância mantida entre a sonda (também conhecida como ponteira) e a amostra, bem como às

formas como essa ponteira se movimenta sobre a superfície da amostra.

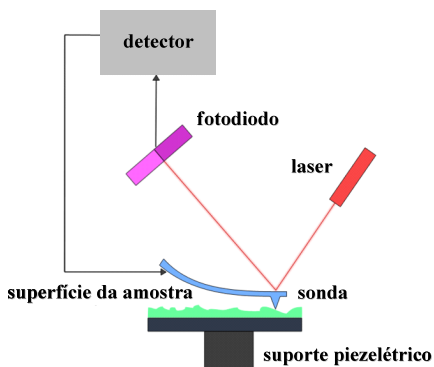


Figura 25. Esquema ilustrativo do princípio da técnica de microscopia de força atômica

As amostras para as medidas de AFM foram preparadas pelo método de imersão conforme descrito previamente com os filmes LbL contendo número de pares de camadas distinto. Foram avaliadas a mudança na morfologia superficial com o aumento do número de pares de camadas ($n = 2$; 5; 10 e 20 PC), ou ainda a influência da carga superficial no aspecto morfológico do filme (onde os valores $n = 2,5$; 5,5; 10,5 e 20,5 denotam uma única camada extra adicionada sobre os filmes anteriormente citados). As imagens topográficas foram coletadas utilizando-se um microscópio de força atômica (AFM) da NanoSurf® easyScan 2 operando no modo contato intermitente, equipado com ponteiros de nitrito de silício (frequência de ressonância – 190 kHz, força constante – 48 N m^{-1}). Essas imagens foram coletadas com uma taxa de varredura de 1,0 Hz e com resolução de 512×512 pixels, em temperatura e umidade ambiente sem nenhum tratamento prévio dos filmes.

As imagens da superfície dos filmes utilizadas na discussão dos resultados foram escaneadas em regiões com variação de área, onde foram escolhidas as áreas de $2,5 \mu\text{m} \times 2,5 \mu\text{m}$ e $10 \mu\text{m} \times 10 \mu\text{m}$. O processamento dessas imagens e a determinação dos valores RMS

(root mean square) utilizados para avaliar a rugosidade dos filmes foram feitos utilizando o software WSxM da Nanotec Electronica.

5.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE QUITOSANA (QT)

As caracterizações das amostras de quitosana utilizadas no presente trabalho foram feitas no Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina, com exceção das medidas de pontencial zeta que foram realizadas no Instituto Charles Sadron (Estrasburgo – França).

5.1.1. Determinação do grau de desacetilação das amostras de quitosana por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN¹H)

Foram utilizadas duas amostras de quitosana (QT), com massas molares distintas. Estas foram designadas como quitosana de baixa massa molar (QT BMM) e quitosana de média massa molar (QT MMM). Uma das técnicas mais utilizadas para a determinação do grau de desacetilação da quitosana é a ressonância magnética nuclear de ¹H (RMN-¹H). Os picos característicos estão centrados em 2 ppm (hidrogênios do grupo acetil), ≈ 3.3 ppm (hidrogênios ligados ao carbono C-2 do anel glicosídico), 3.8 – 4 ppm (hidrogênios ligados aos demais carbonos do anel glicosídico; C-3, C-4, C-5 e C-6), e ≈ 5 ppm (hidrogênio ligado ao carbono C-1) (CAMPANA-FILHO; ABREU, 2009).

A partir dos valores das áreas (A) relativas aos picos dos hidrogênios do grupo acetil (2 ppm) e do hidrogênio ligado ao carbono C-2 do anel polissacarídico obtém-se o grau de desacetilação (GD) através da equação 6:

$$\%GD = \left(\frac{A_{2\text{ppm}}}{3 \times A_{3.3\text{ppm}}} \right) \times 100 \quad (6)$$

Os respectivos espectros de RMN-¹H das amostras de QT BMM e QT MMM são mostrados nas Figuras 26 e 27, respectivamente.

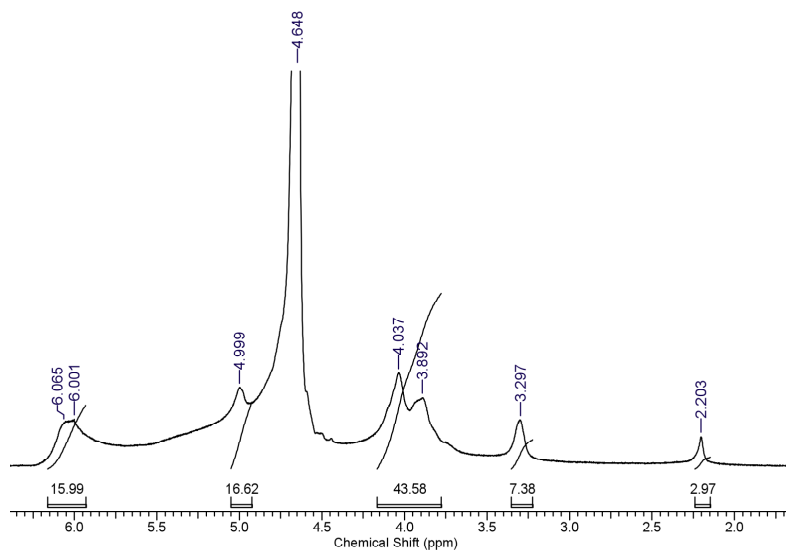


Figura 26. Espectro de RMN- ^1H da QT BMM utilizada para cálculo do GD(%)

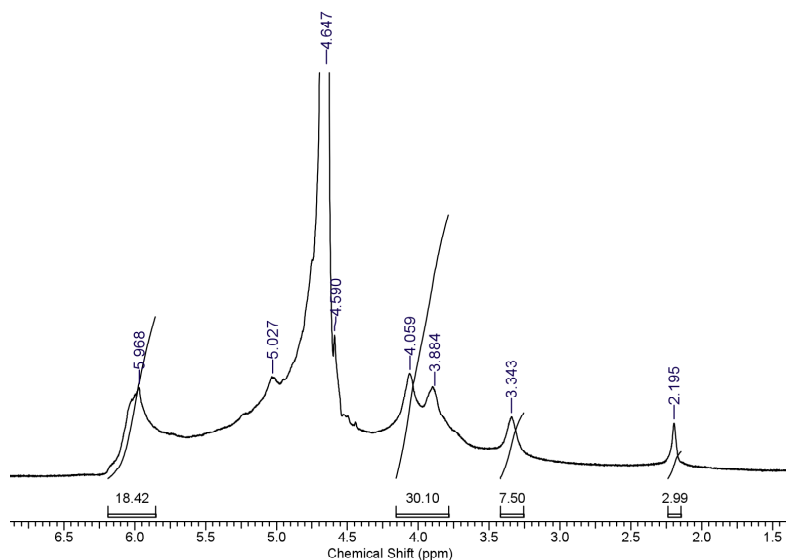


Figura 27. Espectro de RMN- ^1H da QT MMM utilizada para cálculo do GD(%)

A partir dos valores das integrais das áreas dos picos centrados aproximadamente em 2.2 ppm e 3.3 ppm em ambos os espectros e utilizando a equação 6, obteve-se os valores para o grau de desacetilação (% GD) de 83 e 84 %, respectivamente para QT **BMM** e QT **MMM**. A determinação do grau de desacetilação para as amostras de QT utilizadas é de suma importância para a obtenção dos filmes LbL, pois reflete a quantidade de grupos amino que podem sofrer protonação (adquirir carga).

5.1.2. Determinação da Massa Molar Viscosimétrica (M_v) das amostras de quitosana [QT BMM e QT MMM]

A massa molar viscosimétrica média de um polímero pode ser determinada a partir de medidas do tempo de escoamento de soluções diluídas em tubos capilares.

Utilizando-se um viscosímetro de Ostwald, foram determinados os tempos de escoamento para o solvente e para as soluções de quitosana na faixa de concentração de 0,2 – 3,2 mg mL⁻¹ (Tabela 2). Considerando que nessas concentrações a densidade da solução de quitosana e do solvente são aproximadamente iguais, a partir da razão do tempo de escoamento da solução de quitosana pelo tempo de escoamento do solvente tem-se a viscosidade relativa (η_r). Diminuindo a unidade da viscosidade relativa tem-se a viscosidade específica ($\eta_{esp} = \eta_r - 1$). O limite da razão da viscosidade específica pela concentração da solução de quitosana para concentração zero corresponde à viscosidade intrínseca, denotada por $[\eta]$, conforme apresentado na Equação 7, com unidade correspondendo ao inverso da concentração.

$$[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \left(\frac{\eta_{esp}}{C} \right) \quad (7)$$

$$[\eta] = K.M_v^\alpha \quad (8)$$

Onde: $[\eta]$ – viscosidade intrínseca
 K – constante da equação de Mark-Houwink
 M_v – massa molar do polímero
 α – constante da equação de Mark-Houwink

Tabela 2. Concentrações das soluções de quitosana [QT **BMM**] e [QT **MMM**] utilizadas para medir os respectivos tempos de escoamento

QT BMM			QT MMM		
concentração ($\times 10^3 \text{ g mol}^{-1}$)	$t_{\text{escoamento}}$ (s)	std (s)	concentração ($\times 10^3 \text{ g mol}^{-1}$)	$t_{\text{escoamento}}$ (s)	std (s)
0,2	72,74	0,09	0,5	100,95	0,30
0,8	85,18	0,20	0,6	110,25	0,09
1,2	94,52	0,20	0,8	127,32	0,15
1,6	104,48	0,17	1,0	147,06	0,22
2,4	125,49	0,29	1,2	168,95	0,29
3,2	153,94	0,48	1,4	193,23	0,17
-	-	-	1,6	220,30	0,08

Os valores da $[\eta]$ correspondem ao coeficiente linear dos gráficos representados nas Figuras 28 e 29, sendo 273,55 e 752,59 respectivamente. A fim de determinar a massa molar das amostras, os valores para K e α (relativo ao grau de desacetilação das amostras utilizadas) utilizados foram iguais aqueles previamente obtidos por RINAUDO *et al.* (2001). Considerando os valores de grau de desacetilação de 82,8 % [QT **BMM**] e 83,6 % [QT **MMM**], os respectivos valores utilizados foram $K = 0,072 \text{ mL.g}^{-1}$ e $\alpha = 0,799$.

Utilizando a equação 8 e os valores de K e α , a massa molar viscosimétrica das amostras de quitosana foram de aproximadamente $3,0 \times 10^4$ e $10,7 \times 10^4$ para QT **BMM** e QT **MMM**, respectivamente.

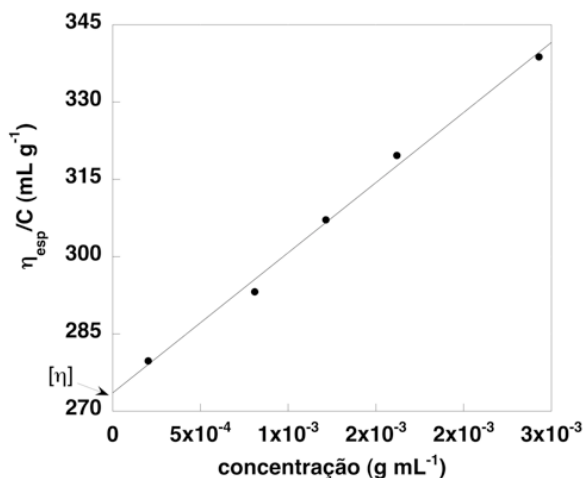


Figura 28. Determinação da viscosidade intrínseca $[\eta]$ para a amostra de quitosana de baixa massa molar [QT **BMM**] ($[\eta] = 273,55$; $R = 0,997$)

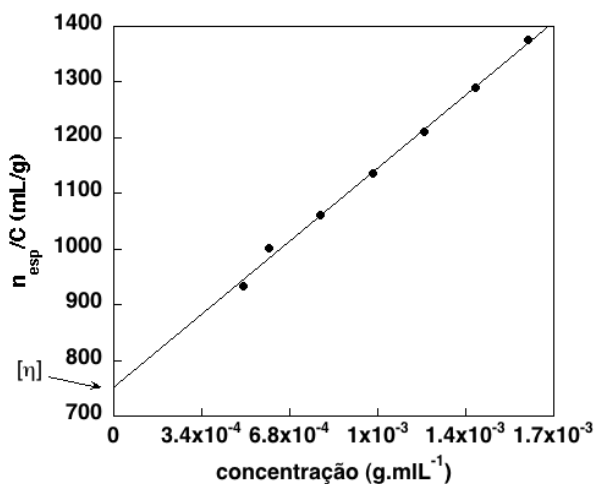


Figura 29. Determinação da viscosidade intrínseca $[\eta]$ para a amostra de quitosana de média massa molar [QT **MMM**] ($[\eta] = 752,59$; $R = 0,998$)

5.2. OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO DERIVADO CARBOXIMETILQUITOSANA (CMQT)

A introdução de outras moléculas no esqueleto da cadeia macromolecular da quitosana é possível devido à reação entre espécies eletrofílicas e os grupos hidroxil e amino distribuídos (espécies nucleofílicas). A carboximetilquitosana [CMCS], um derivado hidrofílico desse biopolímero, pode ser obtido a partir da reação com o ácido cloroacético [ClCH_2COOH]. Devido à presença dos grupos hidroxila e amina, ambos contendo par de elétrons disponíveis, pode-se obter os derivados N-, O-, N,O- ou N,N-substituídos através do controle de alguns parâmetros reacionais (como solvente, temperatura, tempo). (PARK; CHEN, 2003; AN *et al.*, 2009; WANG; WANG, 2008; CAMPANA-FILHO, S. P.; DE ABREU, F. R., 2009)

5.2.1. Caracterização do derivado CMQT por ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN- ^1H)

Para caracterizar o produto obtido a partir da reação de carboximetilação foi feito o espectro de RMN- ^1H , conforme mostrado na Figura 30. Observaram-se mudanças significativas no espectro após a reação de modificação. De acordo com PARK e CHEN (2003) os picos centrados em ≈ 4 e 4.5 ppm são relativos à presença dos hidrogênios dos grupos ($-\text{O}-\text{CH}_2-\text{COOD}$) substituídos nos carbonos C-3 e C6 do anel glicosídico. A região ≈ 3.5 ppm pode ser atribuída aos hidrogênios do grupo ($-\text{N}-\text{CH}_2-\text{COOD}$) substituído na cadeia de quitosana. Isso indica a obtenção do produto CMQT a partir da metodologia adotada.

Devido à complexidade e resolução dos picos observados no espectro de RMN- ^1H , não foi possível determinar o grau de substituição a partir dessa análise.

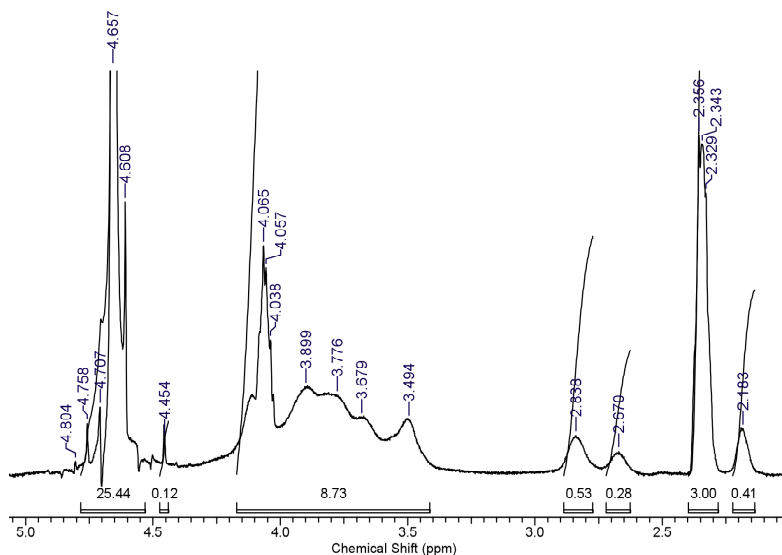


Figura 30. Espectro de RMN- ^1H do derivado CMQT utilizado para caracterização do produto obtido

5.2.2. Determinação do grau de substituição do derivado CMQT por titulação potenciométrica

A técnica de potenciometria é frequentemente utilizada para determinar o grau de substituição (GS) de um polímero após reação de modificação química. O derivado CMQT é um polieletrólito fraco contendo grupos carboxil e amino distribuídos ao longo da cadeia polimérica, logo, pode-se utilizar a potenciometria para avaliar simultaneamente seu comportamento em solução em função do pH do meio.

A Figura 31 mostra que ocorre mais de uma etapa de dissociação para o derivado CMQT durante o processo de titulação. Cada uma dessas etapas pode ser associada à dissociação dos grupos carboxil e amino, separadamente (CHEN *et al.*, 2008).

A etapa de neutralização do excesso de HCl não está visível no gráfico. No entanto, pode ser determinada a partir da titulação da carboximetilcelulose [CMC], que possui apenas um grupo ionizável e é estruturalmente muito semelhante ao derivado CMQT. No presente

estudo, a etapa de neutralização do excesso de HCl foi estimada a partir de dados da literatura como sendo próximo do pH 2,0 (MUZZARELLI *et al.*, 1982) (denotado como **etapa 1** na Figura 31). A assunção quanto ao valor de pH para a etapa 1 concorda em relação à diferentes fontes de CMQT avaliadas.

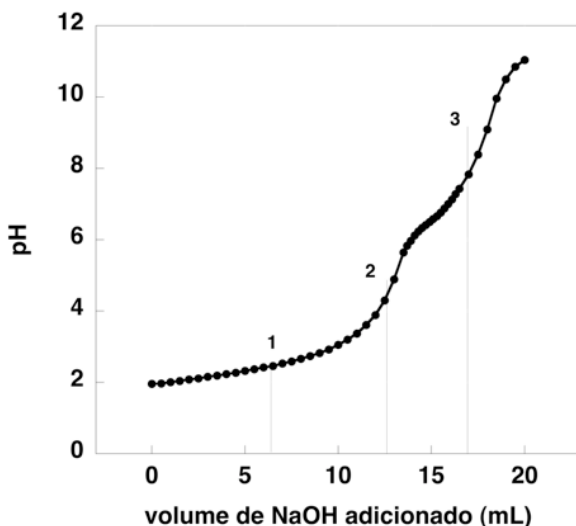


Figura 31. Titulação potenciométrica do derivado CMQT em função do volume de NaOH 0,1 mol L⁻¹ adicionado

Os demais pontos de inflexão **2** e **3** destacados no gráfico estão relacionados à titulação dos grupos protonados carboxila e amina, respectivamente. O grau médio de substituição (GS) para o derivado CMQT foi calculado a partir do método da segunda derivada e da equação 9 (GE e LUO, 2005), obtendo-se o valor aproximado de 0,5.

$$GS = \frac{161 \times \Delta V \times C}{m - 58 \times \Delta V \times C} \quad (9)$$

Onde: GS – grau de substituição

ΔV – volume de NaOH (mL) obtido a partir da segunda derivada do gráfico

C – concentração de NaOH (mol L^{-1})

161 – massa molar (g mol^{-1}) relativa à unidade monomérica da QT desacetilada

58 – massa molar (g mol^{-1}) relativa ao grupo enxertado à cadeia de QT

Durante o procedimento de titulação do derivado CMQT foi observado que esse polieletrólito (anfótero) apresenta uma faixa de pH onde ocorre precipitação (Figura 32). Essa faixa ($\approx 2,8 - 7,0$) corresponde ao intervalo de pH onde essa amostra de CMQT se aproxima da neutralidade da soma das cargas presentes na sua cadeia (*ponto isoelétrico*). A referência a essa faixa como sendo o *ponto isoelétrico* do derivado CMQT se baseia no comportamento similar que as moléculas de proteína apresentam, as quais também possuem grupos de cargas opostas simultaneamente ao longo da cadeia.

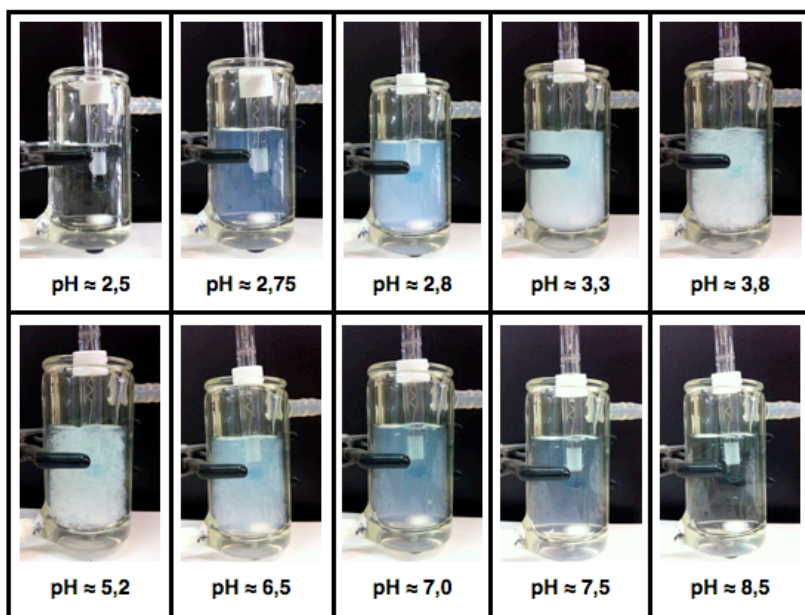


Figura 32. Comportamento do derivado CMQT em solução em função do volume de NaOH adicionado durante o procedimento de titulação potenciométrica

Esse tipo de comportamento com relação à solubilidade permite que essa classe de materiais seja utilizada em aplicações bastante distintas. Um exemplo atual inclui o desenvolvimento de partículas para liberação controlada de agentes ativos. A capacidade de controlar a solubilidade desse material pode auxiliar na otimização do processo, uma vez que as partículas se tornam mais resistentes às diferentes condições de pH do corpo humano.

De acordo com alguns autores, o derivado CMQT pode apresentar uma estrutura complexa do ponto de vista do seu comportamento de dissociação em solução. Isso porque leva em consideração a presença de grupos de cargas opostas na mesma cadeia polimérica, com constantes de dissociação (k_a) distintas (CHEN *et al.*, 2008). Além disso, esse procedimento de modificação química (mesmo quando feita sob condições reacionais brandas) pode resultar em uma mistura complexa com diferentes combinações de monômeros.

5.2.3. Determinação da Massa Molar Viscosimétrica Média (M_v) do derivado carboximetilquitosana [CMQT]

A massa molar viscosimétrica média (M_v) do derivado carboximetilquitosana [CMQT] foi determinada de maneira semelhante ao procedimento descrito no item 5.1.2. Utilizando-se um viscosímetro de Ostwald, foram determinados os tempos de escoamento para o solvente (solução aquosa de NaCl em uma concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$) e soluções de CMQT na faixa de concentração de 0,2 a $0,5 \text{ g dL}^{-1}$, cujos valores são apresentados na Tabela 3.

O valor da $[\eta]$ corresponde ao coeficiente linear do gráfico na Figura 33, sendo igual a 1,59. Os valores para K e α utilizados foram semelhantes aos utilizados por ZHAI *et al.* (2007), e correspondem a $K = 7,92 \times 10^{-5} \text{ dL g}^{-1}$ e $\alpha = 1,00$. Utilizando a equação 8 (Mark-Houwink), o valor encontrado para a massa molar viscosimétrica do derivado CMQT foi de $2,0 \times 10^4$.

Tabela 3. Concentrações das soluções de carboximetilquitosana [CMQT] utilizadas para medir os tempos de escoamento, η_r e η_{sp}

CMQT				
concentração (g dL ⁻¹)	t _{escoamento} (s)	std (s)	η_r	η_{sp}
0,20	91,52	0,08	1,52	0,52
0,25	103,31	0,14	1,72	0,72
0,30	116,26	0,07	1,93	0,93
0,35	129,79	0,13	2,16	1,16
0,40	144,50	0,15	2,40	1,40
0,50	185,71	0,26	3,09	2,09

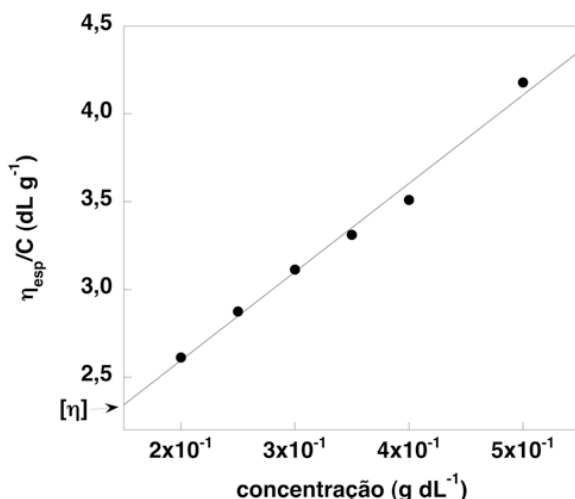


Figura 33. Determinação da viscosidade intrínseca para amostra de carboximetilquitosana (CMQT). ($[\eta] = 1,59$; $R = 0,994$)

As mesmas considerações foram feitas para se determinar a viscosidade relativa (η_r) e a viscosidade específica ($\eta_{sp} = \eta_r - 1$). Considerando a equação 9 obteve-se a viscosidade intrínseca $[\eta]$ que foi utilizada para a determinação de M_v desse derivado.

Os valores de $[\eta]$ para o derivado CMQT foram também calculados a partir da equação do método *One-Point* (equação 10) com os respectivos valores apresentados na Tabela 4.

$$[\eta] = \frac{4(\eta_{sp}^{1.02} \times \ln \eta_r)}{C^{1.01}(3\eta_{sp} + \ln \eta_r)} \quad (10)$$

Tabela 4. Valores de $[\eta]$ calculados através do método *One-Point*

concentração (g dL ⁻¹)	CMQT	
	$[\eta]$	média $[\eta]$
0,20	2,22	2,41
0,25	2,32	
0,30	2,40	
0,35	2,43	
0,40	2,60	
0,50	2,60	

Substituindo na equação 10 a média encontrada para os valores de $[\eta]$, bem como os valores pré-definidos de K ($7,92 \times 10^{-5}$ dL g⁻¹) e α (1,00), obteve-se a massa molar viscosimétrica de $3,0 \times 10^4$ para o derivado CMQT.

Considerando-se que esses dois métodos são maneiras indiretas para se determinar a massa molar do derivado, a diferença encontrada (≈ 10.000) pode estar relacionada às aproximações feitas nos cálculos.

De maneira geral, a diminuição nos valores de massa molar do derivado CMQT indica que as cadeias da amostra de QT **MMM** utilizada sofreram degradação durante a reação de modificação química (cerca de 70 %).

5.3. DETERMINAÇÃO DO PONTO ISOELÉTRICO DOS POLIELETRÓLITOS QT E CMQT MONITORADO ATRAVÉS DOS VALORES DE POTENCIAL ZETA

A medida de pontecial zeta fornece valores que podem ser relacionados com a atração e/ou repulsão das partículas dispersas no meio, e consequentemente com a estabilidade da solução frente à agregação.

De certa maneira, para soluções de polieletrólitos essa medida pode ser utilizada para predizer se a quantidade de carga é suficiente para que ocorra a complexação e deposição das camadas adjacentes. Conforme demonstrado por PICART *et al.* (2001), essa medida também é utilizada para monitorar a deposição de cada camada, pois permite a afirmação quanto à reversão de carga superficial após cada etapa desse processo.

No presente trabalho, utilizou-se a medida de potencial zeta para avaliar a quantidade de carga total no meio em função da variação do pH. Inicialmente a QT apresentou um valor de potencial zeta igual a + 63 mV (pH 4,1) enquanto para a amostra de CMQT esse valor foi de – 51 mV (pH 8,2).

O gráfico apresentado na Figura 34 mostra simultaneamente o comportamento desses polieletrólitos durante a titulação, passando pelo ponto onde o meio atinge a neutralidade de cargas (potencial zeta igual a zero). O valor de pH que corresponde a esse valor de potencial zeta foi de 8,36 para a QT e de 3,76 para o derivado CMQT. Como se observa, essas macromoléculas podem ser classificadas como *polieletrólitos fracos* sendo possível controlar a quantidade de carga presente pelo ajuste do valor de pH do meio.

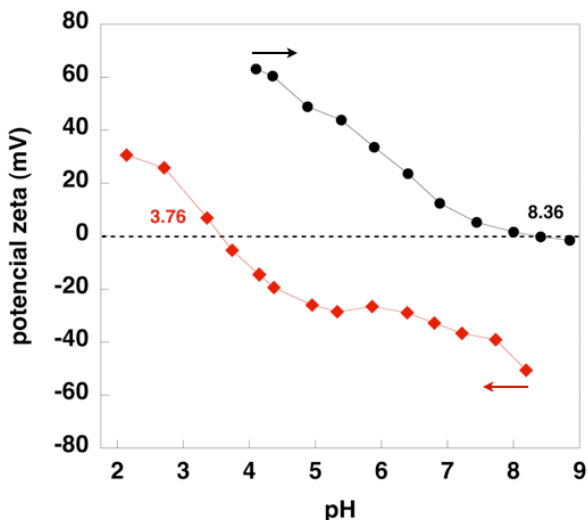


Figura 34. Variação do potencial zeta do meio para a QT (—) e para CMQT (—) em solução em função do pH do meio. As setas indicam o ponto inicial da titulação

5.4. COMPORTAMENTO VISCOSIMÉTRICO DAS SOLUÇÕES DE POLIELETRÓLITOS E DOS COMPLEXOS FORMADOS EM SOLUÇÃO AVALIADO ATRAVÉS DA VISCOSIDADE RELATIVA

O comportamento viscosimétrico da QT e do derivado CMQT em solução foram avaliados em função da concentração de polímero e da força iônica do meio. Para tanto, foram determinados os valores de viscosidade relativa dessas espécies.

A variação da viscosidade do meio, como consequência da mudança na conformação das cadeias poliméricas pode influenciar a formação e morfologia dos filmes de multicamadas. Para a obtenção dos filmes LbL a concentração dos polieletrólitos utilizada deve estar abaixo da concentração crítica de agregação (cac), pois assume-se que a maioria dos agregados formados são provenientes da complexação entre espécies de cargas opostas.

A presença de aglomerados não-uniformes de polieletrólitos antes da interação com as espécies de cargas opostas pode acarretar na formação de complexos pouco estáveis. Complexos de polieletrólitos (PECs) formados por cadeias poliméricas de massa molar

similar tendem a formar complexos insolúveis mais estáveis (SCHLENOFF; SUI; SALLOUM, 2003). Além disso, considerando que no processo LbL os eventos ocorrem em nível nanométrico, a presença de aglomerados com tamanhos maiores fracamente fixados na interface do filme pode comprometer a formação das camadas seguintes.

Primeiramente, foi avaliado a variação nos valores de viscosidade relativa da QT **BMM**, QT **MMM** e CMQT em função da concentração desses polieletrólitos no meio, separadamente (Figura 35). Para essas medidas, o valor do pH das soluções corresponde aos às condições iniciais nos quais esses polieletrólitos foram solubilizados. Essa foi uma das condições utilizadas para obter os filmes de multicamadas.

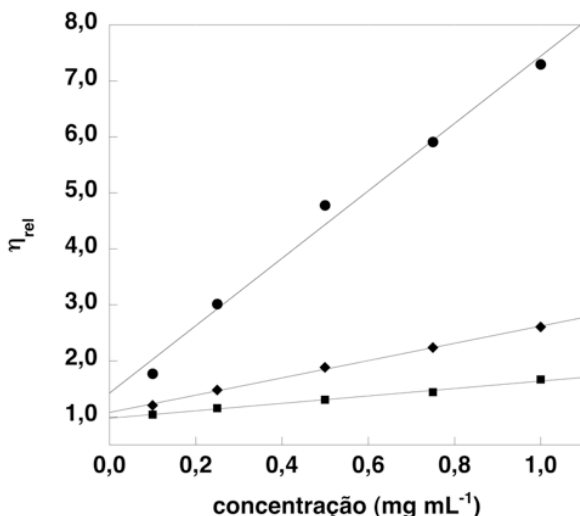


Figura 35. Variação dos valores de viscosidade relativa para a amostra de QT **MMM** (círculo, $R = 0,994$), QT **BMM** (losango, $R = 0,999$) e CMQT (quadrado, $R = 0,996$) em função da concentração de cada um desses polieletrólitos. Solvente água destilada e pH inicial das soluções de polieletrólitos

Conforme observado na Figura 35, a viscosidade das amostras de QT **MMM**, QT **BMM** e do derivado CMQT aumentou linearmente com a concentração (de acordo com os valores do coeficiente de correlação retirados da equação da reta para cada uma dessas

espécies). A amostra de QT **MMM** foi a que apresentou valores consideravelmente maiores de η_{rel} , chegando em torno de 7,5 para a concentração de $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$. Nessa mesma concentração, as amostras de QT **BMM** e do derivado CMQT apresentaram valores menores de η_{rel} , na faixa de 2,5 e 1,5 respectivamente. A diferença encontrada nos valores de massa molar para QT **BMM** ($M_v = 3,0 \times 10^4$), QT **MMM** ($M_v = 10,7 \times 10^4$) e CMQT ($M_v = 2,0 \times 10^4$) determinados nos itens 5.1.2 e 5.2.3 reflete o comportamento viscoso de cada amostra. Quanto maior a massa molar, maior o tamanho das cadeias e também mais acentuada a repulsão entre cadeias vizinhas e o enovelamento entre elas. Esse fato reflete em uma maior resistência ao escoamento dessas macromoléculas em solução.

A viscosidade relativa dessas amostras de polieletrólitos (QT **BMM**, QT **MMM** e CMQT) foi avaliada com relação à alteração do pH e da força iônica do meio (Figura 36). Para simular as condições nas quais as multicamadas serão obtidas, os polieletrólitos foram dissolvidos em água e tanto o pH quanto a força iônica do meio foram ajustados.

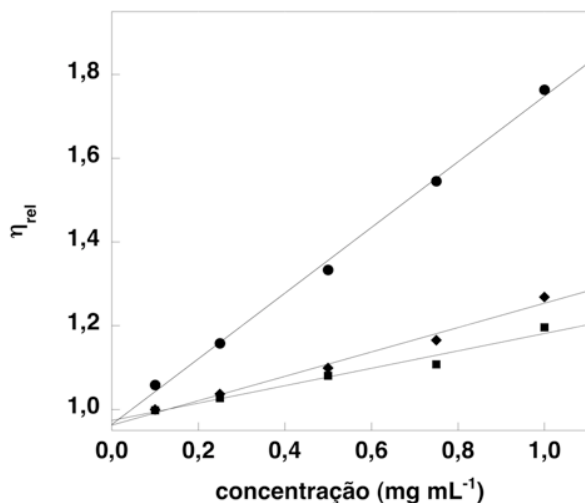


Figura 36. Variação dos valores de viscosidade relativa para a amostra de QT **MMM** (círculo, $R = 0,998$), QT **BMM** (losango, $R = 0,993$) e CMQT (quadrado, $R = 0,984$) em função da concentração de cada um desses polieletrólitos. Solvente solução aquosa de NaCl $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ e pH das soluções ajustado para 6,0; 6,0 e 6,5 respectivamente

Considerando a variação dos valores de potencial zeta durante a titulação descrita no item 5.3 e o comportamento de solubilidade descrito no item 5.2.2, os valores de pH das soluções de QT (**BMM** e **MMM**) e de CMQT foram ajustados para 6,0 e 6,5, respectivamente.

De maneira geral a η_{rel} de todas as três amostras diminuiu consideravelmente (Figura 36) com a alteração desses dois parâmetros, pois tanto a adição de sal quanto o ajuste do pH alteram a quantidade de cargas presente. Considerando a concentração da solução como $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$, os valores foram de aproximadamente 1,75, 1,25 e 1,20 para QT **MMM**, QT **BMM** e CMQT, respectivamente. Essa diminuição nos valores de viscosidade reflete o fato da diminuição da repulsão existente entre cadeias vizinhas de cargas iguais. Logo, as cadeias tendem a se enovelar diminuindo a sua resistência ao escoamento (LUCAS; SOARES; MONTEIRO, 2001).

Mesmo sendo um método de avaliação indireto, esse comportamento sugere que na faixa de concentração estudada, não houve mudança significativa (fora da linearidade) nos valores de viscosidade relativa. Também não foi possível determinar com precisão se existe um valor de *cac* (concentração crítica de agregação) para cada um desses polieletrólitos em ambas as condições (Figura 35 e 36). Esse fato não representa um indicativo da ausência de agregados em solução, apenas sugere que os mesmos se comportam de maneira linear com sua concentração no meio.

Os diferentes métodos de deposição das multicamadas usam diferentes tempos de interação entre as espécies de cargas opostas (variando de segundos a minutos). Então, para avaliar a mudança da viscosidade do meio durante esses procedimentos foram feitas medidas de η_{rel} para uma mesma solução em função do tempo corrido (min). A concentração das soluções dos polieletrólitos foi de $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$, semelhante àquelas utilizadas para a formação dos filmes LbL. As Figuras 37 e 38 mostram a variação da viscosidade do meio em função do tempo corrido para os sistemas utilizando QT **MMM** ou QT **BMM**, respectivamente. As condições representadas nessas duas figuras correspondem às soluções nas condições de pH inicial e sem adição de sal.

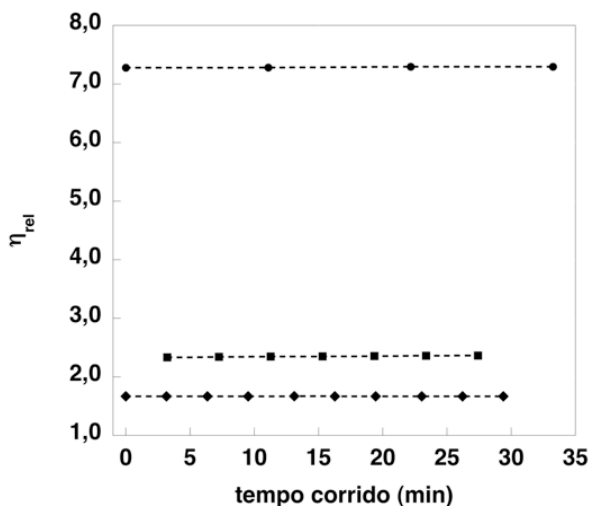


Figura 37. Variação dos valores de viscosidade relativa para a amostra de QT **MMM** (círculo), CMQT (losango) e para o complexo CMQT/QT **MMM** formado por essas duas espécies (quadrado) em função do tempo corrido. Solvente água destilada e pH inicial das soluções de polieletrólitos

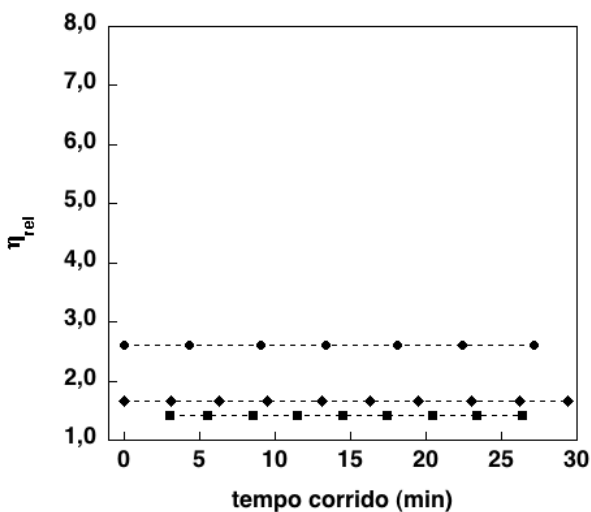


Figura 38. Variação dos valores de viscosidade relativa para a amostra de QT **BMM** (círculo), CMQT (losango) e para o complexo CMQT/QT **BMM** formado por essas duas espécies (quadrado) em função do tempo corrido. Solvente água destilada e pH inicial das soluções de polieletrólitos

A formação de complexos proveniente da combinação desses polieletrólitos causa uma diminuição na viscosidade do meio, uma vez que as repulsões eletrostáticas entre as cadeias adjacentes dá lugar à formação dos aglomerados poliméricos insolúveis. Essa *neutralização* das cargas do meio diminui a resistência das espécies do meio ao escoamento.

De maneira geral, nessas condições tanto as soluções dos polieletrólitos quanto as soluções dos complexos formados pela combinação de QT **MMM**/CMQT (Figura 37, losango) e QT **BMM**/CMQT (Figura 38, losango) apresentaram estabilidade nos valores de η_{rel} durante o tempo avaliado. Essa estabilidade sugere também que não ocorre variação significativa no tamanho dos complexos formados, uma vez que nenhuma alteração brusca dos valores de η_{rel} foram observados. A duração desse experimento compreende o tempo mais longo utilizado para a formação das multicamadas (15 min), incluindo ainda o tempo extra de lavagem dos substrato (10 min, total).

Comparando-se os valores de η_{rel} relativos aos complexos formados (Figuras 37 e 38, quadrados), observa-se que combinando o par QT **MMM**/CMQT estes valores se encontram num intermédio (aprox. 2,3) entre os valores dos polieletrólitos de origem. Enquanto isso, a combinação que utiliza o par QT **BMM**/CMQT apresenta valores de viscosidade para o complexo formado menores (em torno de 1,4) que dos respectivos polieletrólitos de origem.

Os complexos formados por cadeias de massa molar similar (QT **BMM**/CMQT) são geralmente mais estáveis e insolúveis. Essa etapa de complexação parece envolver grande parte das cadeias presentes, de acordo com a observação na mudança dos valores de η_{rel} . Quando a combinação para formar os complexos ocorre com o par QT **MMM**/CMQT, uma diferença significativa entre o tamanho das cadeias envolvidas pode levar à formação de complexos menos estáveis. Logo, coexistem no meio complexos formados pela combinação de ambos os complexos de polieletrólitos e uma quantidade de cadeias de QT **MMM** livres que contribuem para o aumento da viscosidade dessa solução (equilíbrio em solução: complexos insolúveis – cadeias livres).

De maneira semelhante, foi avaliada a estabilidade dos complexos formados pela combinação desses dois polieletrólitos (QT **MMM**/CMQT e QT **BMM**/CMQT) em função do tempo corrido quando

alguns parâmetros (pH e força iônica) da solução são alterados. Nas Figuras 39 e 40 estão representados a variação da η_{rel} em função do tempo corrido para o conjunto que utiliza QT **MMM** ou QT **BMM**, respectivamente.

Novamente pode ser observado que a alteração do pH (para 6,0 e 6,5) e da força iônica do meio (NaCl: 0,15 mol L⁻¹) influenciam os valores da η_{rel} para os complexos formados nessas condições. Os complexos formados pela combinação QT **MMM**/CMQT apresentaram valores de viscosidade na ordem de 1,23, enquanto para a combinação QT **BMM**/CMQT esses valores foram em torno de 1,05.

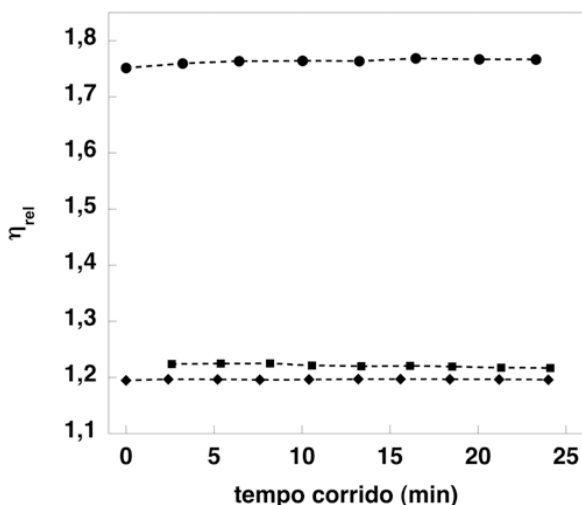


Figura 39. Variação dos valores de viscosidade relativa para a amostra de QT **MMM** (círculo), CMQT (losango) e para o complexo formado por essas duas espécies (quadrado) em função do tempo corrido. Solvente solução aquosa de NaCl 0,15 mol L⁻¹ e pH das soluções ajustado para 6,0; 6,0 e 6,5, respectivamente

Novamente, esse comportamento pode ser correlacionado com a estabilidade dos complexos formados. A combinação QT **BMM**/CMQT produz estruturas (complexos insolúveis) mais estáveis, enquanto a combinação QT **MMM**/CMQT dá origem a uma mistura de complexos de polieletrólitos e cadeias livres de QT **MMM** que

contribuem para o aumento da viscosidade da solução (equilíbrio em solução: complexos insolúveis – cadeias livres).

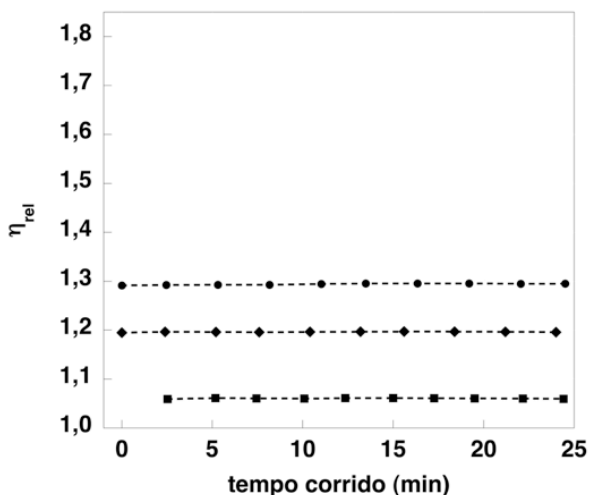


Figura 40. Variação dos valores de viscosidade relativa para a amostra de QT BMM (círculo), CMQT (losango) e para o complexo formado por essas duas espécies (quadrado) em função do tempo corrido. Solvente solução aquosa de NaCl 0,15 mol L⁻¹ e pH das soluções ajustado para 6,0; 6,0 e 6,5 respectivamente

5.5. EFICIÊNCIA DA TÉCNICA LAYER-BY-LAYER (LBL)

A técnica de autoassociação camada-por-camada (conhecida como *Layer-by-Layer* – LbL) tem mostrado um expressivo aumento relacionado ao número de publicações anuais relacionadas a esse tema. Isso nos dá uma idéia do crescente interesse que esta técnica desperta como uma área promissora no desenvolvimento de materiais inovadores com controle estrutural em escala nanométrica.

Com o intuito de explorar esse conceito “easy to do” e sua versatilidade, estudou-se como ponto de partida o sistema formado pelo par poli(estireno sulfonato de sódio) [PSS] e quitosana [QT]. Na literatura alguns estudos reportam a combinação desses dois polieletrólitos (MATTOSO *et al.*, 2003; GAO *et al.*, 2003).

No presente tópico foi avaliada a influência de alguns parâmetros experimentais geralmente ressaltados na literatura, como método de deposição, concentração das espécies e pH do meio (quando se trata de um polieletrólito fraco).

5.5.1. Construção das multicamadas monitorada por espectroscopia UV-Vis

Quando as espécies envolvidas na obtenção desses filmes LbL absorvem radiação na região do UV-Vis, o processo de autoassociação pode ser acompanhado de maneira prática por espectroscopia UV-Vis. Conforme mostrado na Figura 41, a deposição das multicamadas pelo método de spray do filme composto por $(PSS/QT)_n$ foi monitorada através da absorbância da espécie PSS, que tem ν_{\max} centrado no número de onda de 194 cm^{-1} . Utilizou-se a amostra de QT **BMM** ($M_v = 30.216$) para a obtenção desses filmes. A concentração dos polieletrólitos e a força iônica do meio (NaCl) foram mantidas constantes, sendo $0,068\text{ mg mL}^{-1}$ e $0,5\text{ mol L}^{-1}$ para PSS e $1,0\text{ mg mL}^{-1}$ e $0,15\text{ mol L}^{-1}$ para QT **BMM**, respectivamente. O pH medido para a solução de QT foi de 3,5 – 4,0 e para a solução de PSS foi 6,0.

A quitosana é uma espécie que não absorve radiação UV-Vis nessa faixa de comprimento de onda. Logo a absorbância detectada após a deposição de uma única camada de QT (linha verde na Figura 41) sugere uma interpenetração das camadas nesse estágio do processo. RUBNER e SHIRATORI (2000) reportaram um comportamento semelhante com relação aos valores de ângulo de contato da superfície de um filme composto por $(PAA/PAH)_n$. Para este filme, o comportamento na variação desses valores é um indicativo de a interpenetração entre camadas adjacentes ocorre em uma determinada extensão z próximo à superfície do filme. Além disso, grupos ligados à cadeia polimérica podem estar configurados para *dentro* ou *fora* da interface filme/ar.

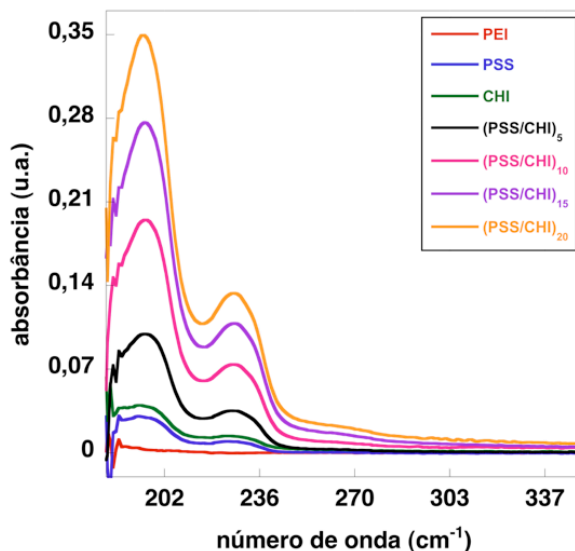


Figura 41. Deposição pelo método de spray das multicamadas do filmes composto por $(\text{PSS}/\text{QT})_n$ monitorada por espectroscopia UV-Vis no ν_{max} da espécie PSS, centrado em 194 cm^{-1}

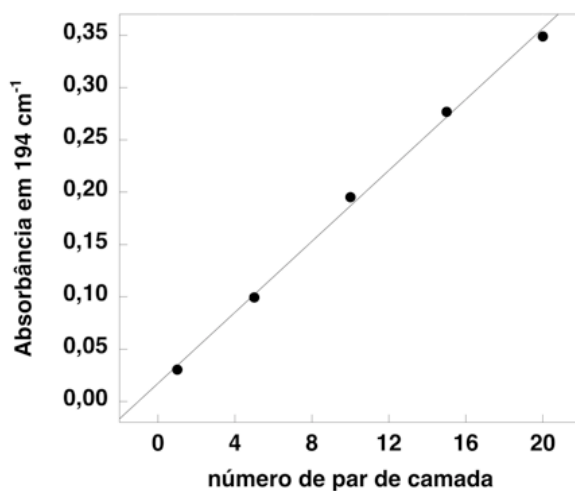


Figura 42. Autoassociação do sistema $(\text{PSS}/\text{QT})_n$ em função do número de par de camadas depositadas pelo método de spray, medido por espectroscopia UV-Vis ($R = 0,998$)

Quando os valores de absorbância correspondentes ao v_{\max} de cada camada depositada são plotados em função do número de par de camadas (PC), obtém-se o perfil de crescimento desse filme. Na Figura 42 se observa que o filme formado pelo par (PSS/QT)_n apresentou crescimento linear ($R = 0,998$). Esse fato sugere que, nas condições representadas no gráfico, a formação das multicamadas ocorre sem a difusão dessas espécies ao longo z do filme. Apesar de alguns estudos indicarem a QT como uma espécie que difunde ao longo do filme (WINNIK *et al.*, 2005), nas condições experimentais relativas à Figura 41 isso não foi observado.

Esse método não fornece valores exatos de espessura mas pode ser eficientemente utilizado para acompanhar a deposição das camadas em cada etapa do processo de formação do filme LbL.

5.5.2. Construção das multicamadas monitorada por elipsometria

Na tentativa de explorar alguns dos métodos de deposição existentes foram avaliados a influência do processo de imersão, spray e spray-sob alta rotação do substrato (ou *spray-spin*) na autoassociação das multicamadas (Figura 43). A concentração de polieletrólitos e a força iônica do meio foram mantidas constantes e iguais àquelas utilizadas para os filmes monitorados por espectroscopia UV-Vis.

Para um mesmo número de par de camadas (PC) depositadas, o método de imersão foi aquele que resultou em filmes mais espessos (Figura 43, círculos). Considerando 10 pares de camadas depositados, os filmes obtidos pelo método de imersão tiveram aproximadamente 25 nm de espessura. Paralelamente, os filmes obtidos por spray (Figura 43, quadrados) e spray-spin (Figura 43, losangos) tiveram espessuras na ordem de 19 nm e 10 nm, respectivamente. Além disso, os valores dos coeficientes angulares (relativos às regiões lineares das curvas) representam o incremento na espessura por PC depositado durante a obtenção do filme (imersão: 4,574 nm/PC; spray: 1,896 nm/PC e spray-spin: 1,859 nm/PC). Valores maiores de espessura observados para o método de imersão estão relacionados ao tempo de contato maior entre as espécies de cargas opostas. O processo de complexação pode estar próximo do equilíbrio, favorecendo a interação de um maior número de espécies.

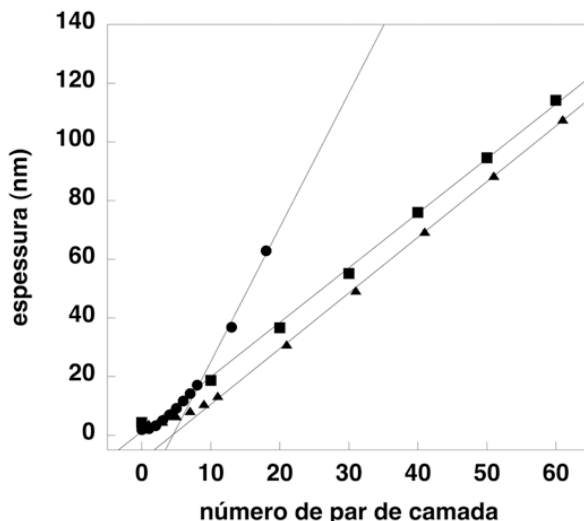


Figura 43. Autoassociação do sistema PSS/QT em função do número de par de camadas depositadas por diferentes métodos, medidos por elipsometria. Imersão (círculos), spray (quadrados) e spray-spin (triângulos). Os coeficientes angulares das curvas para imersão (4,574 nm/par de camada, $R = 0,997$), spray (1,896 nm/par de camada, $R = 1,00$) e spray-spin (1,859 nm/par de camada, $R = 0,999$) indicam o incremento na espessura por par de camada durante a obtenção do filme LbL.

Para os outros dois métodos analisados (spray e spray-spin), a diminuição nos valores de espessura medidos estão relacionados à efeitos físicos externos. Quando a solução é aspergida sobre o substrato fixado verticalmente, grande parte da solução contendo o polieletrólito é drenada da superfície por gravidade e pela ação do jato de ar (proveniente da pressão interna da garrafa de spray). Para o substrato condicionado à alta rotação (10.000 rpm), além da perda de material devido ao spray, existe a ação da força centrífuga que expulsa rapidamente grande parte das gotículas aspergidas sobre o substrato. Apesar da perda de material que ocorre durante a deposição das camadas, a diminuição significativa no tempo de obtenção do filme LbL continua tornando esses dois métodos bastante atrativos para produção em larga escala.

Para o filme obtido pelo método de imersão e spray-spin observou-se uma região inicial com crescimento exponencial característico. Mesmo o PSS sendo considerado um polieletrólito forte,

é possível que as cadeias de quitosana tenham difundido dentro e fora do filme nessas condições. Quando este filme atinge a espessura aproximada de 12 nm, espessura que corresponde ao *reservatório* para esse sistema, ocorre a transição do regime de crescimento exponencial para o crescimento linear. No regime de crescimento linear, a nova camada de polieletrólito interage apenas com a camada mais externa do filme.

A combinação desse par de polieletrólitos (nas condições experimentais descritas acima) resultaram em filmes que apresentam cor quando luz branca incide sobre a superfície da amostra (Figura 44). Esses filmes foram depositados sobre a superfície de Si, que é uma superfície com índice de refração definido. A uniformidade na cor apresentada por esses filmes indica que as multicamadas atingiram um estado estratificado em nível nanométrico.



Figura 44. Imagem do filme LbL formado por 70 PC do sistema PSS/QT, depositadas pelo método de spray. A marca na parte inferior da amostra corresponde ao local por onde a amostra é fixada no suporte

A influência da concentração das soluções de polieletrólitos durante a autoassociação das multicamadas está representada na Figura 45. Esses filmes foram obtidos pelo método de spray. Como esperado, para um determinado número de par de camadas (PC) depositadas, os filmes obtidos utilizando a solução de QT $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ foram mais espessos que aqueles filmes utilizando QT $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$. Tomando 10 PC como referência, a diferença na espessura foi aproximadamente o dobro (21 nm para QT $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ e 9 nm para QT $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$). Os valores de coeficiente angular de ambas as curvas indicam o incremento na espessura a cada PC depositado. Ambos as

condições resultaram em filmes com crescimento linear ao longo de toda a extensão de multicamadas estudada. Esse fato sugere que cada nova camada depositada interage por atração eletrostática com a camada vizinha mais externa, não ocorrendo difusão significativa da QT para dentro e fora do filme.

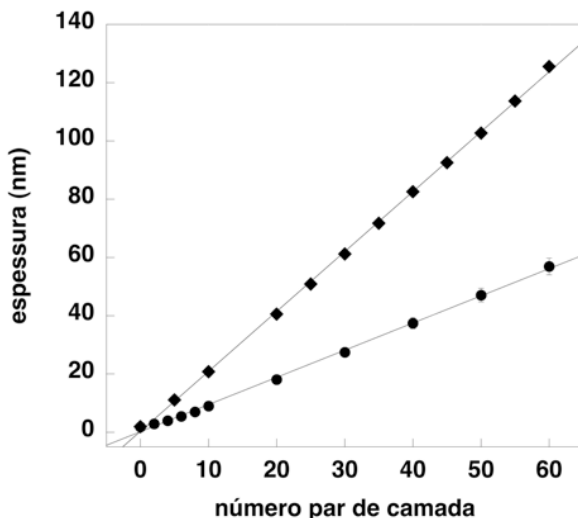


Figura 45. Autoassociação do sistema (PSS/QT)_n em função do número de par de camadas depositadas pelo método de spray, medidos por elipsometria. Solução de QT 1,0 mg mL⁻¹ (losangos) e QT 0,5 mg mL⁻¹ (círculos). Os coeficientes angulares das curvas para 1,0 mg mL⁻¹ (2,056 nm/par de camada, R = 0,999) e 0,5 mg mL⁻¹ (0,932 nm/par de camada, R = 0,999) indicam o incremento na espessura por par de camada durante a obtenção do filme LbL.

5.5.3. Construção das multicamadas monitorada por microbalança de cristal de quartzo (QCM-D)

A deposição consecutiva das multicamadas de PSS e QT foi monitorada também pela técnica de QCM. A autoassociação das multicamadas ocorre em condições semelhantes ao método de imersão, com o substrato em contato ("imerso") com a solução do polieletrólito de carga oposta por tempo prolongado. A Figura 46 mostra a variação nos valores de frequência e dissipação ao longo do processo de deposição de uma determinada camada para esse filme

(PSS/QT)_n. Quando o substrato entra em contato com a solução de QT, o sinal da **frequência** (eixo à **esquerda** no gráfico) cai como resultado da adsorção desse polieletrólito na superfície do eletrodo (camada externa PSS, carga superficial negativa). Após a estabilização do sinal (equilíbrio no processo adsorção-dessorção) foi injetada a solução de lavagem (*lav*). Observou-se um aumento discreto no valor da frequência, sugerindo a remoção de material fracamente adsorvido. Para a deposição da camada seguinte de PSS, observou-se comportamento semelhante nos valores de frequência. Primeiramente uma diminuição nesse valor quando certa quantidade de PSS é adsorvida, seguida de um aumento discreto com o procedimento de lavagem. A amplitude numérica (Δf) que ocorre na variação de frequência está diretamente relacionada a massa de material depositado. Isso varia de acordo com a natureza do polieletrólito e condições do meio (pH, força iônica, etc).

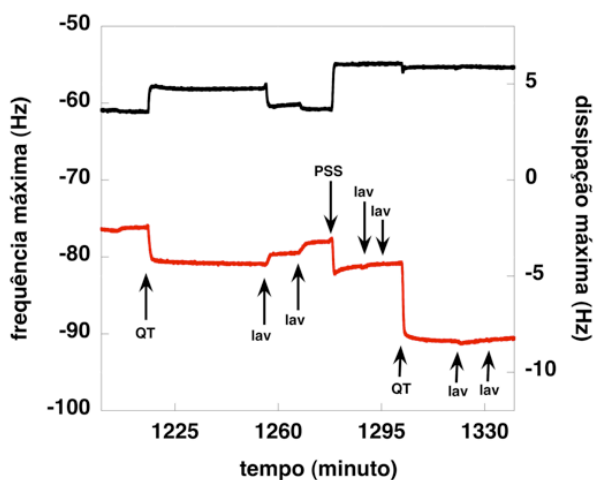


Figura 46. Variação nos valores de frequência (—) e dissipação (—) durante a deposição das multicamadas de QT e PSS. As setas indicam o início de cada etapa durante a formação de **uma camada**: adsorção do polieletrólito (QT ou PSS) e lavagem (*lav*). Os dados foram reportados com relação à frequência de ressonância fundamental (5 MHz) no quinto harmônico

A variação nos valores de dissipação acompanha os respectivos valores de frequência para cada etapa do procedimento de deposição e lavagem. Mesmo não correspondendo aos mesmos valores numéricos,

serve para identificar o comportamento viscoelástico do filme sendo formado. Quando material é adsorvido ocorre um aumento no valor de **dissipação** (eixo à **direita** no gráfico) relacionado ao aumento de energia sendo dissipada pelo cristal. Após a etapa de lavagem esse valor sofre uma diminuição devido à remoção de material fracamente adsorvido na superfície do eletrodo. Esse ciclo se repete durante a deposição da cada camada.

Considerando os valores de frequência e dissipação no final do procedimento de lavagem para cada camada (conforme mostrado na Figura 46), foi possível obter o perfil do crescimento do filme depositado sobre o eletrodo de quartzo, conforme mostrado na Figura 47.

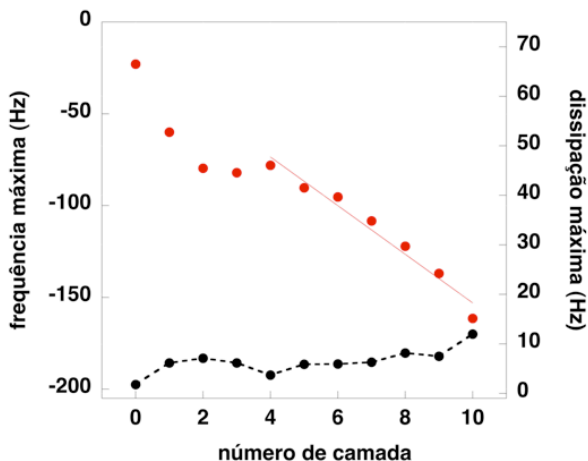


Figura 47. Variação nos valores de **frequência** (círculos vermelhos, eixo à esquerda) e **dissipação** (círculos pretos, eixo à direita) durante a deposição das multicamadas do sistema PSS/QT. O coeficiente angular correspondente à região linear da curva é $-13,243 \text{ Hz/camada}$ ($R = 0,982$). Os dados foram reportados com relação à frequência de ressonância fundamental (5 MHz)

Cada ponto nesse gráfico corresponde a deposição de **uma camada** de polieletrólito. Acompanhando o perfil da variação dos valores de frequência (eixo à esquerda no gráfico) observou-se que a deposição das primeiras camadas do sistema $(\text{PSS/QT})_n$ apresentou crescimento exponencial com a interdifusão das espécies ao longo da

extensão z do filme. Esse mesmo perfil exponencial foi observado para a obtenção desse filme $(PSS/QT)_n$ através do procedimento de imersão (Figura 43, círculos). Após a deposição da camada número 4 observou-se a transição para um regime de crescimento linear das camadas subsequentes.

A variação dos valores de dissipação durante a autoassociação das multicamadas não ultrapassou a faixa de 10 Hz. Essa faixa de valores permite considerar o comportamento viscoelástico do filme $(PSS/QT)_n$ como um sistema rígido e anisotrópico, de acordo com exemplos semelhantes reportados na literatura (KEKICHEFF *et al.*, 2004; 2005). Logo, de acordo com os requisitos da equação de Sauerbrey (1959) foi possível calcular a massa de Sauerbrey de material depositada por camada. Para tanto, considerou-se a região linear relativa a variação de frequência (Figura 47) que apresentou um valor para o coeficiente angular igual a $-13,243$ Hz. Substituindo esse valor na equação 5 a massa média de material depositada por camada resultante foi de aproximadamente 47 ng cm^{-2} .

Essa primeira parte do trabalho serviu de base para explorar e caracterizar outros sistemas com potencial aplicação na área nanotecnológica. A compreensão de fatores envolvidos permite desenvolver materiais onde é possível controlar a estrutura interna e morfologia durante a deposição das multicamadas.

5.6. AUTOASSOCIAÇÃO DE MULTICAMADAS DE CARBOXIMETILQUITOSANA [CMQT] E HIDROCLORETO DE POLI(ALIL AMINA) [PAH] PARA OBTENÇÃO DE FILMES LBL

A capacidade de combinar os mais diversos materiais com um controle a nível nanométrico, serviu de motivação para a utilização de *biopolieletrólitos*. A carboximetil quitosana é um derivado que foi obtido da modificação química da quitosana (conforme descrito no item 5.2), e que apresenta potencial bioaplicação.

Nesse item, está descrito o estudo relacionado à combinação do derivado CMQT e poli(alil amina) [PAH] para a construção de filmes LbL. Este último sendo um dos polieletrólitos mais utilizados para a

obtenção dessa classe de filmes desde o seu início. Para a obtenção desses filmes a concentração de polieletrólitos e força iônica do meio foram constantes e iguais a $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ ($0,15 \text{ mol L}^{-1}$) e $0,286 \text{ mg mL}^{-1}$ ($0,50 \text{ mol L}^{-1}$) respectivamente. O pH medido para a solução de PAH foi 7,10 e para a solução de CMQT foi 8,15. As condições para a solução de CMQT foram semelhantes às condições descritas para a QT (item 5.5). Foram utilizadas amostras de PAH com massa molar de $15.000 \text{ g mol}^{-1}$ [**PAH15**] ou $56.000 \text{ g mol}^{-1}$ [**PAH56**].

5.6.1. Construção das multicamadas monitorada por elipsometria

Os parâmetros avaliados para esse par de polieletrólitos foram o método de deposição e influência da massa molar do PAH durante a autoassociação das multicamadas (Figuras 48, 49 e 50). Na Figura 48 está apresentada a influência da massa molar do PAH na autoassociação das multicamadas do filme $(\text{CMQT/PAH})_n$ depositado pelo método de imersão. Em geral, a espessura final dos filmes obtidos com **PAH56** ($\approx 240 \text{ nm}$) foram significativamente mais espessos que os filmes obtidos com **PAH15** ($\approx 40 \text{ nm}$). No entanto, ambos os filmes apresentam crescimento exponencial durante a deposição dos primeiros pares de camadas (PC). Para o sistema $(\text{CMQT/PAH56})_n$ a transição para um regime de crescimento linear é mais acentuada, e ocorre a partir do sexto PC depositado.

A partir do coeficiente angular relativo a região linear das curvas (Figura 48) é possível estimar o incremento na espessura dos filmes a cada PC depositado. Para o filme obtido com **PAH15** esse incremento foi de $5,177 \text{ nm/PC}$ enquanto com **PAH56** foi de $48,516 \text{ nm/PC}$. A diferença nos valores de incremento foi significativa (cerca de 9 vezes) e está relacionada a massa molar das cadeias de PAH. Com o aumento do tamanho das cadeias de PAH, aumenta a chance de um maior enovelamento entre cadeias adjacentes depositadas, aumentando a espessura da camada depositada.

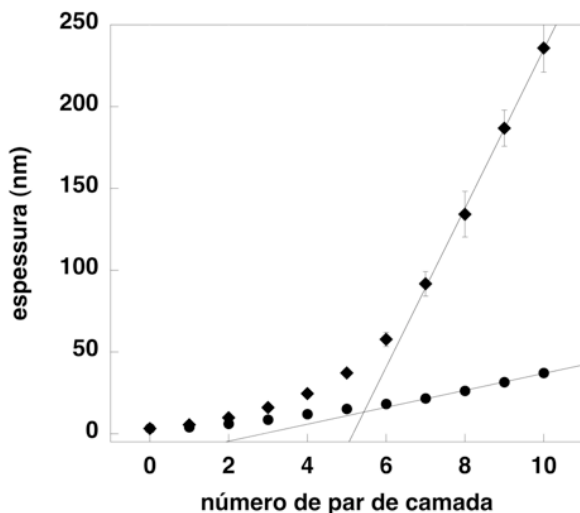


Figura 48. Autoassociação do sistema $(\text{CMQT/PAH})_n$ em função do número de par de camadas depositadas pelo método de imersão, medidos por elipsometria. PAH $15.000 \text{ g mol}^{-1}$ (círculos) e PAH $56.000 \text{ g mol}^{-1}$ (losangos). Os coeficientes angulares das curvas PAH $15.000 \text{ g mol}^{-1}$ ($5,177 \text{ nm/par de camada}$, $R = 0,999$) e PAH $56.000 \text{ g mol}^{-1}$ ($48,516 \text{ nm/par de camada}$, $R = 0,999$) indicam o incremento na espessura por par de camada durante a obtenção do filme LbL.

Utilizando os outros dois métodos de spray (Figura 49) e spray-spin (Figura 50) para a deposição das multicamadas observou-se novamente que os filmes obtidos com **PAH56** tiveram espessuras maiores que aqueles obtidos com **PAH15**. Na Figura 49, fixando-se 10 PC, a espessura do filme foi de aproximadamente 100 nm utilizando **PAH56** enquanto 15 nm utilizando **PAH15**.

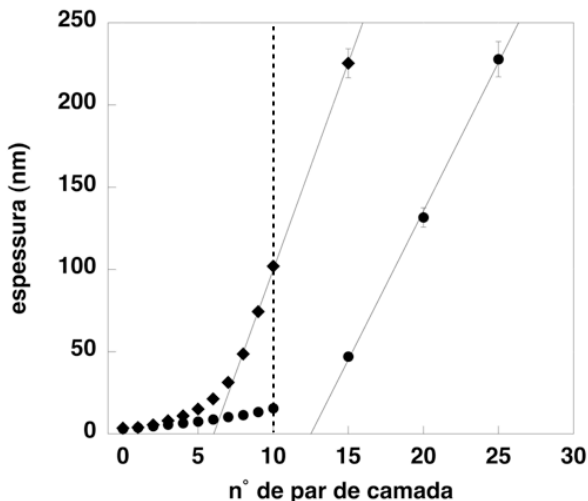


Figura 49. Autoassociação do sistema CMQT/PAH em função do número de par de camadas depositadas pelo método de spray, medidos por elipsometria. PAH 15.000 g mol⁻¹ (círculos) e PAH 56.000 g mol⁻¹ (losangos). Os coeficientes angulares das curvas PAH 15.000 g mol⁻¹ (18,078 nm/par de camada, R = 0,999) e PAH 56.000 g mol⁻¹ (25,180 nm/par de camada, R = 0,999) indicam o incremento na espessura por PC durante a obtenção do filme LbL

Ambos filmes apresentaram crescimento exponencial durante a deposição das primeiras camadas com transição para um regime de crescimento linear a partir de 15 PC (**PAH15**) e 8 PC (**PAH56**) depositados. A faixa de espessura que apresenta crescimento exponencial representa o *reservatório* do filme onde ocorre a interdifusão de pelo menos uma das espécies ao longo da extensão do filme. Considerando a região linear das curvas, o incremento na espessura para os filmes (CMQT/**PAH15**)_n e (CMQT/**PAH56**)_n foi de 18,078 nm e 25,180 nm por PC depositado.

Consideração semelhante pode ser feita para os filmes obtidos por spray-spin (Figura 50). Fixando 10 PC, os filmes (CMQT/PAH)_n obtidos com PAH 56 apresentaram espessura de aproximadamente 80 nm enquanto os filmes obtidos com PAH 15 apenas 30 nm. A transição de um regime com crescimento exponencial para um regime de crescimento linear ocorreu a partir de 8 PC (**PAH15**) e 6 PC (**PAH56**) depositados, indicando a existência de um “*reservatório*” inicial onde ocorre a interdifusão de pelo menos um dos polieletrólitos.

Novamente, o coeficiente angular da região linear das curvas indicou um incremento de 6,886 nm e 13,951 nm por PC depositado para os filmes obtidos com **PAH15** e **PAH56**, respectivamente.

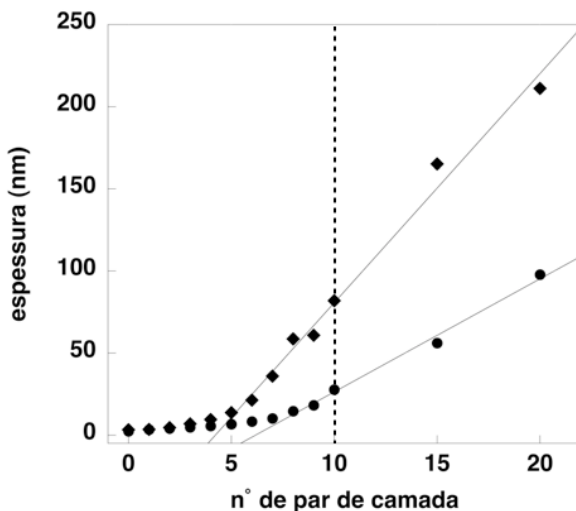


Figura 50. Autoassociação do sistema CMQT/PAH em função do número de par de camadas depositadas pelo método de spray-spin, medidos por elipsometria. PAH 15.000 g mol⁻¹ (círculos) e PAH 56.000 g mol⁻¹ (losangos). Os coeficientes angulares das curvas PAH 15.000 g mol⁻¹ (6,886 nm/par de camada, R = 0,996) e PAH 56.000 g mol⁻¹ (13,951 nm/par de camada, R = 0,993) indicam o incremento na espessura por par de camada durante a obtenção do filme LbL

De maneira geral, os filmes (CMQT/PAH)_n obtidos com **PAH56** são mais espessos que aqueles obtidos com **PAH15** independentemente do método de deposição utilizado para a autoassociação das multicamadas. Para esses sistemas observou-se claramente a existência de dois regimes distintos de crescimento do filme: exponencial e linear. Esse fato indica um estágio inicial onde pelo menos uma das espécies difunde através de toda a extensão do filme, sem estratificação definida que é alcançada durante o regime linear de formação do filme.

A possibilidade de se obter filmes espessos contendo um pequeno número de camadas tem sido explorada por Grunze *et al.* (2009) com o intuito de desenvolver materiais para adesão celular e de

microrganismos. As condições utilizadas para a obtenção do filme (CMQT/**PAH56**)_n pelo método de imersão tornam essa combinação atrativa para esta possível aplicação.

5.6.2. Construção das multicamadas monitorada por microbalança de cristal de quartzo (QCM-D)

A autoassociação das multicamadas para a obtenção desses filmes (CMQT/**PAH15**)_n e (CMQT/**PAH56**)_n foi monitorada pela técnica de QCM-D, conforme mostrado nas Figuras 51 e 52, respectivamente. As condições experimentais para a deposição das multicamadas (concentração de polieletrólito e força iônica) foram as mesmas utilizadas para os demais filmes desse sistema (CMQT/PAH)_n. A principal diferença observada nesse experimento foi o tempo maior necessário até que os sinais de frequência e dissipação alcançassem a estabilização exigida (equilíbrio adsorção-dessorção da superfície do eletrodo). A necessidade de um período de tempo prolongado para a obtenção do filme LbL resultou na análise de um menor número de camadas depositadas, principalmente para o filme obtido com **PAH56** (6 camadas depositadas, Figura 52).

Acompanhando a variação nos valores de frequência para o filme obtido com **PAH15** observou-se a existência de regimes diferenciados durante o crescimento do filme (linha pontilhada dividindo o gráfico na Figura 51). O regime com interdifusão das espécies (exponencial) está mais facilmente identificado e ocorre até a deposição da camada 6 (semelhante ao filme obtido pelo método de imersão, Figura 48) enquanto a região relativa ao que seria o regime com crescimento linear parece mais difícil de ser identificada (Figura 51).

Logo, ao invés de um valor médio para a massa de Sauerbrey (massa depositada por camada) foram calculados os valores relativos à deposição de cada camada individualmente, conforme apresentado na Tabela 5. Conforme observado, os maiores valores de massa depositada por camada acontece após a interação da superfície do filme com o polieletrólito CMQT, alcançando valores de aproximadamente 2163 ng cm⁻². Os valores negativos observados após a deposição de algumas camadas podem estar relacionados à remoção de material fracamente adsorvido e/ou perda de água e íons presentes

na estrutura interna do filme como resultado da formação de novos complexos (conforme ilustrado na reação de complexação, Figura 2).

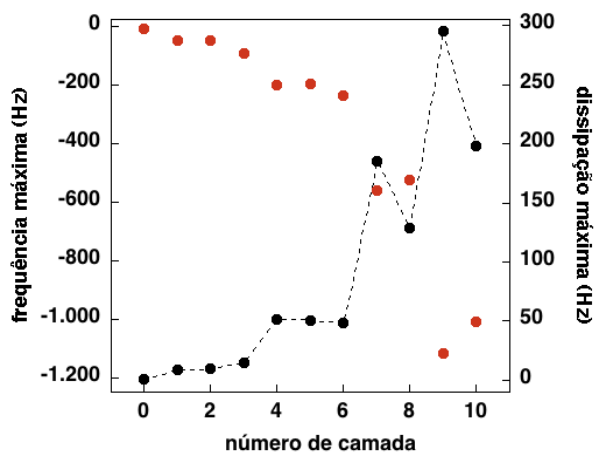


Figura 51. Variação nos valores de **frequência** (círculos vermelhos, eixo à esquerda) e **dissipação** (círculos pretos, eixo à direita) durante a deposição das multicamadas do sistema (CMQT/PAH15)_n. Os dados foram reportados com relação à frequência de ressonância fundamental (5 MHz)

Tabela 5. Δf e respectivos valores de massa de Sauerbrey calculados para cada camada (sub-índice) de polieletrólito depositada na obtenção do filme (CMQT/PAH15)

camada	Δf (Hz)	massa Sauerbrey (ng cm ⁻²)	camada	Δf (Hz)	massa Sauerbrey (ng cm ⁻²)
CMCS _{1a}	- 34,34	+ 121,56	PAH15 _{6a}	- 38,49	+ 136,25
PAH15 _{2a}	- 0,57	+ 2,02	CMCS _{7a}	- 341,19	+ 1207,81
CMCS _{3a}	- 43,77	+ 154,95	PAH15 _{8a}	+ 35,38	- 125,25
PAH15 _{4a}	-120,75	+ 427,45	CMCS _{9a}	- 611,00	+ 2162,94
CMCS _{5a}	+ 2,51	- 8,89	PAH15 _{10a}	+ 106,92	- 378,50

A Figura 52 apresenta a variação dos valores de frequência e dissipação durante a autoassociação das multicamadas do sistema (CMQT/PAH56)_n monitorada por QCM-D. Semelhantemente ao sistema obtido com PAH15, observou-se a existência de regimes diferenciados durante o crescimento do filme com PAH56 (linha pontilhada dividindo o gráfico na Figura 52). No entanto, uma vez que esse experimento foi realizado até o número de camada 6, a diferenciação entre os regimes com crescimento exponencial e linear ficou comprometida.

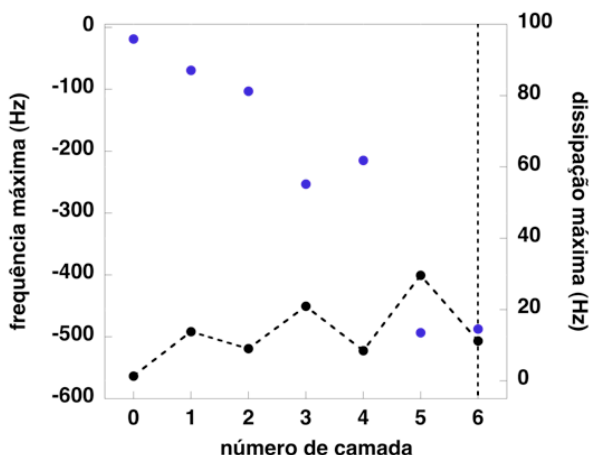


Figura 52. Variação nos valores de **frequência** (círculos azuis, eixo à esquerda) e **dissipação** (círculos pretos, eixo à direita) durante a deposição das multicamadas do sistema (CMQT/PAH56)_n. Esses dados são reportados com relação à frequência de ressonância fundamental (5 MHz)

De maneira semelhante, ao invés de um valor médio para a massa de Sauerbrey foram calculados os valores relativos à deposição de cada camada individualmente, conforme apresentado na Tabela 6. Os maiores valores de massa depositada por camada foram observados após a interação da superfície do filme com o polieletrólito CMQT, alcançando valores de aproximadamente 1073 ng cm^{-2} . Foram observados novamente valores negativos após a deposição de algumas camadas, os quais podem estar relacionados à remoção de material fracamente adsorvido e/ou perda de água e íons presentes na estrutura interna do filme como resultado da formação de novos complexos (conforme ilustrado na reação de complexação, Figura 2).

Para um mesmo número de camada (6 camadas, linha pontilhada indicada nas Figuras 51 e 52), os filmes obtidos com **PAH56** tem quantidade consideravelmente maior de material adsorvido na superfície do eletrodo (conforme observado pelos valores de frequência alcançados; aproximadamente – 500 Hz para PAH56 contra aproximadamente – 300 Hz para **PAH15**).

Tabela 6. Δf e respectivos valores de massa de Sauerbrey calculados para cada camada (sub-índice) de polieletrólito depositada na obtenção do filme (CMQT/PAH56)

camada	Δf (Hz)	massa Sauerbrey (ng cm ⁻²)
CMCS _{1a}	- 46,41	+ 164,29
PAH56 _{2a}	- 30,29	+ 107,23
CMCS _{3a}	- 154,53	+ 547,04
PAH56 _{4a}	+ 27,51	- 97,39
CMCS _{5a}	- 303,15	+ 1073,15
PAH56 _{6a}	+ 29,17	- 103,26

O comportamento tipo “zig-zag” na variação dos valores de dissipação (Figuras 51 e 52, eixo à direita nos gráficos correspondentes), principalmente a diminuição observada após a deposição de cada camada de PAH, pode estar relacionada a remoção de material fracamente adsorvido mas também ao encolhimento das cadeias adsorvidas devido à lavagem com solução salina mais concentrada (CMQT: 0,15 mol L⁻¹, PAH: 0,50 mol L⁻¹). O aumento da força iônica do meio neutraliza as cargas presentes nos polieletrólitos, diminuindo a repulsão entre cadeias adjacentes, responsável por manter as cadeias na forma *esticada*. O *encolhimento* das cadeias deixa o filme mais compacto fazendo com que a energia dissipada pelo cristal diminua. Esse comportamento pode ser correlacionado ao trabalho reportado por SCHLENOFF e DUBAS (2001) para filmes LbL nos quais o intumescimento e espessura das camadas sofrem influência da força iônica do meio.

5.6.3. Morfologia dos filmes de multicamadas analisada por microscopia de força atômica (AFM)

Considerando a importância da morfologia da superfície dos filmes de acordo com a aplicação visada, foram avaliados os parâmetros de número de pares de camada depositados e força iônica do meio para o sistema (CMQT/PAH56)_n. Como mencionado anteriormente, a partir da combinação desses dois polieletrólitos é possível obter facilmente filmes espessos com um número relativamente baixo de camadas depositadas.

A Figura 53 reúne as imagens de AFM dos filmes de (CMQT/PAH56)_n contendo diferentes números de pares de camadas ($n = 2; 5; 10$ e 20 PC) obtidos em condições distintas de força iônica (sem sal até $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ de NaCl). Observou-se que para a maioria dos filmes, a morfologia superficial foi influenciada por ambos os parâmetros avaliados (eixos diagonais), tanto em espessura quanto em morfologia granular da superfície. A variação nas alturas ao longo da superfície dos filmes está relacionada à variação da cor nessas imagens (Figura 53), sendo *preto* as regiões mais baixas e *branco* as regiões mais altas. Considerando um mesmo número de camadas depositadas (eixo vertical na Figura 53), os filmes construídos em solução aquosa de força iônica $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ (NaCl) resultaram em uma maior quantidade de material depositado (sistemas mais espessos), em concordância com as análises feitas por elipsometria, Figuras 48; 49 e 50. Para os filmes construídos na ausência de NaCl a variação nas alturas ao longo da superfície do filme com o aumento do número de camadas depositadas não apresentou mudança significativa na quantidade de material depositado.

A influência da força iônica na deposição consecutiva das multicamadas desse sistema também pode ser observada na Figura 53 (eixo horizontal). Conforme citado ao longo da discussão desse trabalho, a força iônica do meio tem papel importante na conformação das cadeias dos polieletrólitos. Consequentemente, o enovelamento das cadeias decorrente da ausência das repulsões eletrostáticas faz com que a morfologia superficial corriqueiramente granular dos complexos seja alterada para uma forma mais irregular.

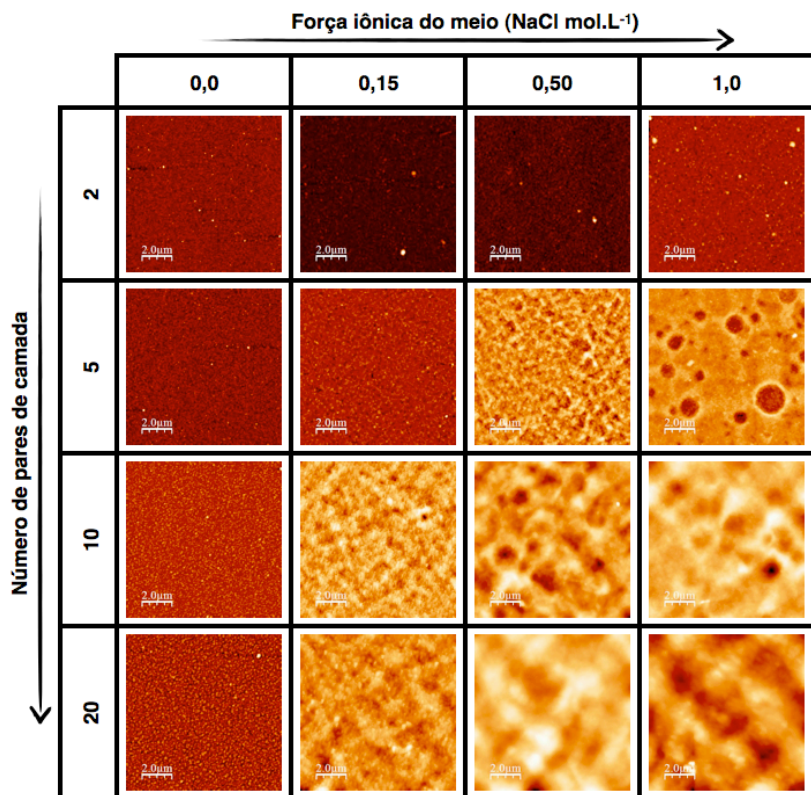


Figura 53. Morfologia superficial dos filmes LbL do sistema (CMQT/PAH56)_n composto de 2; 5; 10 e 20 pares de camadas (eixo vertical) em função da força iônica do meio (eixo horizontal). Imagens com área de varredura igual a 10 µm x 10 µm

As Figuras seguintes 54, 55, 56 e 57 apresentam os histogramas das alturas em função da concentração de NaCl no meio (sem adição de NaCl; 0,15; 0,50 e 1,0 mol L⁻¹, respectivamente) de cada uma das imagens de AFM mostradas na Figura 53. Cada letra **a**, **b**, **c** e **d** nessas figuras corresponde à variação do número de par de camadas (PC) depositadas.

Esses histogramas revelam a distribuição média da variação das alturas (nm) e o número médio das desses eventos (estruturas

granulares) presentes na superfície dos filmes obtidos em diferentes condições de força iônica.

Para os filmes $(\text{CMQT/PAH56})_n$ construídos **sem adição de NaCl (Figura 54)**, o aumento do número de PC depositadas ocasionou um aumento na altura média das estruturas granulares da superfície dos filmes mais espessos (condições **c** e **d**). Nessas condições observou-se ainda a co-existência das estruturas granulares de altura média menor, presentes na deposição dos primeiros PC (condições **a** e **b**).

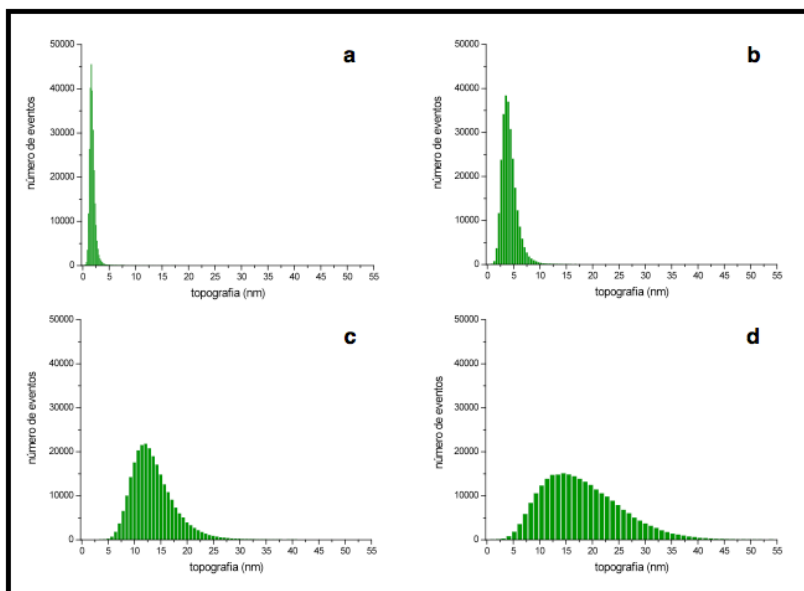


Figura 54. Histograma dos filmes de $(\text{CMQT/PAH56})_n$ construídos **sem adição de NaCl** em função do número de PC depositadas. Sendo **a, b, c e d** relativos à 2; 5; 10 e 20 PC, respectivamente

Nesses filmes, as estruturas granulares apresentam altura média na faixa de 1 – 35 nm estando distribuídas de maneira não-uniforme ao longo da superfície dos filmes mais espessos.

Com o aumento da força iônica (**Figura 55**) para $0,15 \text{ mol.L}^{-1}$, o aumento do número de PC depositadas não influenciou de maneira significativa a variação das alturas das estruturas granulares presentes. A maioria dos eventos (estruturas granulares) observados se encontra na faixa de variação de alturas entre 9 - 17 nm. É possível ainda notar

uniformidade na variação de altura das estruturas granulares presentes na superfície dos filmes.

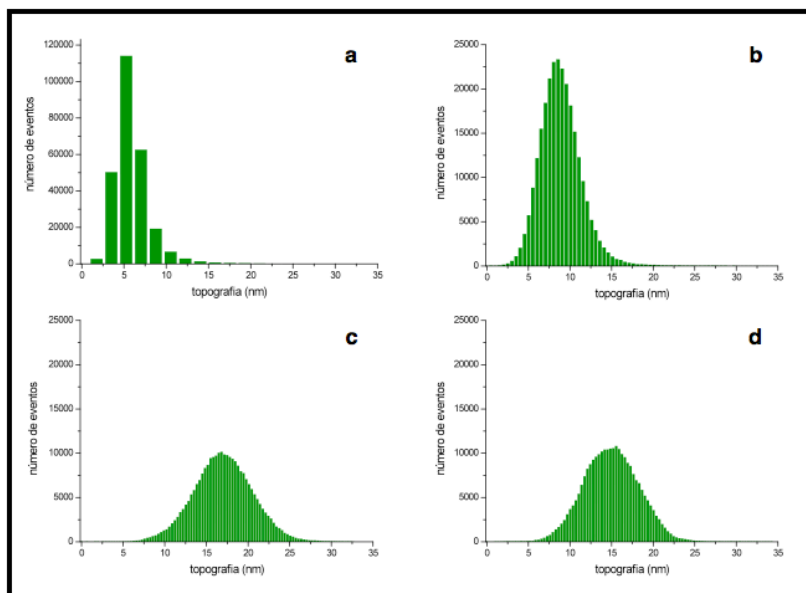


Figura 55. Histograma dos filmes de $(\text{CMQT/PAH56})_n$ contendo $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ de NaCl em função do número de PC depositadas. Sendo **a**, **b**, **c** e **d** relativos à 2; 5; 10 e 20 PC, respectivamente

Os filmes $(\text{CMQT/PAH56})_n$ obtidos na presença de $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ de NaCl (**Figura 56**) apresentam um aumento significativo na variação das alturas das estruturas granulares da superfície. Com a deposição subsequente de um maior número de PC observou-se um aumento de aproximadamente 5 nm (2 PC depositadas) para aproximadamente 65 nm (20 PC depositadas). O aumento da força iônica altera a conformação das cadeias dos polieletrólitos e consequentemente a forma dos complexos de polieletrólitos depositados. Logo, a variação das alturas das estruturas granulares presentes na superfície é maior. Como resultado da grande variação das alturas médias das estruturas granulares presentes, observa-se perda na uniformidade da superfície para esses filmes.

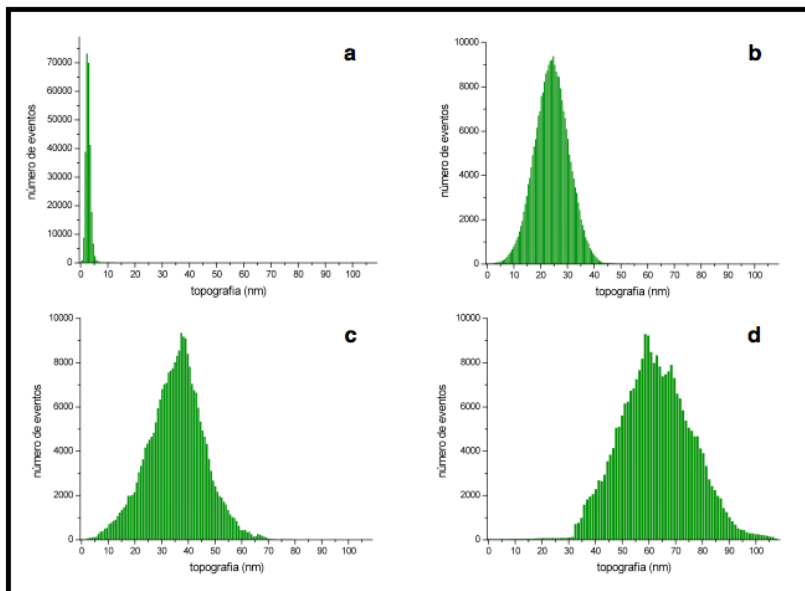


Figura 56. Histograma dos filmes de $(\text{CMQT}/\text{PAH56})_n$ contendo $0,50 \text{ mol L}^{-1}$ de NaCl em função do número de PC depositadas. Sendo **a**, **b**, **c** e **d** relativos à 2; 5; 10 e 20 PC, respectivamente

Finalmente, o histograma das alturas dos filmes $(\text{CMQT}/\text{PAH56})_n$ obtidos na presença de $1,0 \text{ mol.L}^{-1}$ de NaCl estão apresentados na **Figura 57**. O aumento do número de PC depositadas ocasiona uma mudança significativa na variação das alturas médias das estruturas granulares (aproximadamente 7 nm para a condição **a**, até 40 – 50 nm para as condições **c** e **d**) bem como na uniformidade da superfície.

O aumento da força iônica do meio provoca a neutralização de uma maior quantidade das cargas presentes na cadeia do polieletrólito. Esse evento pode causar o colapso e precipitação de algumas das cadeias individuais (Figura 1, precipitação polieletrólito com a adição de sal), podendo comprometer o processo de adsorção dos complexos de polieletrólitos na superfície dos filmes.

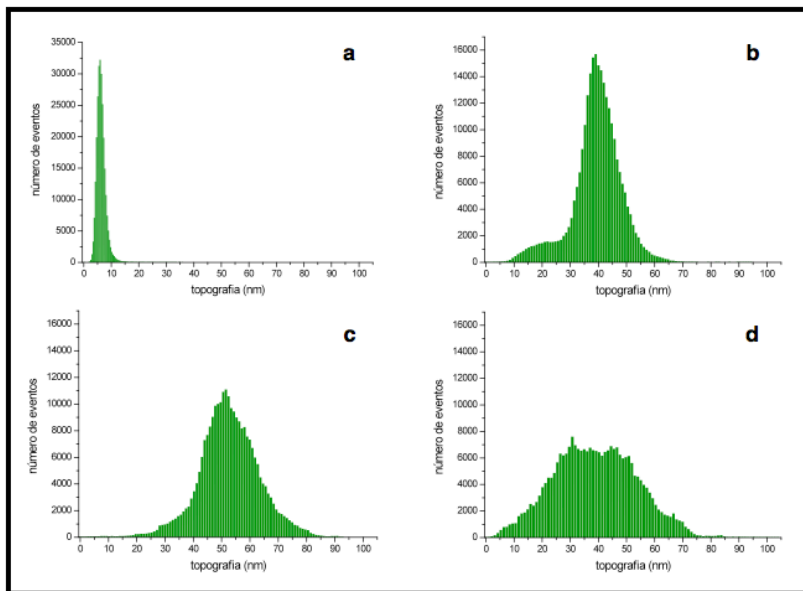


Figura 57. Histograma dos filmes de $(\text{CMQT/PAH56})_n$ contendo $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ em função do número de PC depositadas. Sendo **a**, **b**, **c** e **d** relativos à 2; 5; 10 e 20 PC, respectivamente

5.7. AUTOASSOCIAÇÃO DE MULTICAMADAS DE CARBOXIMETILQUITOSANA [CMQT] E QUITOSANA [QT] PARA OBTENÇÃO DE FILMES LBL

Para a obtenção dos filmes LbL formados por esse par de polieletrólitos foram utilizadas soluções de QT e CMQT $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$, contendo $0,15 \text{ mol L}^{-1}$ de NaCl. Quando mencionado, o pH inicialmente 3,5 e 8,15 das soluções de QT e CMQT foi ajustado para 6,0 e 6,5 respectivamente, com a adição de soluções de NaOH e HCl. As demais condições (concentração de polieletrólito e de NaCl) foram mantidas constantes para a obtenção desses filmes.

5.7.1. Construção das multicamadas monitorada por elipsometria

Uma vez que esse par de polieletrólitos é formado por ambas espécies consideradas como polieletrólitos fracos, seu comportamento

de dissociação e conseqüentemente a densidade total de carga ao longo da cadeia varia conforme o pH do meio muda. Alguns estudos anteriores mostraram a influência do pH na construção das multicamadas, apresentando regimes de crescimento distintos quando se usa essa classe de polímeros (polieletrólitos fracos) (SCHONHOFF; BIEKER, 2010).

A modificação química da QT **MMM** para obter o derivado CMQT causou a degradação da massa molar viscosimétrica de aproximadamente 110.000 para aprox. 20.000, conforme demonstrado no item 5.2.3 (viscosimetria).

Na Figura 58 observa-se que não ocorreu deposição significativa de um filme (espessura total aprox. 8 nm) quando estes polieletrólitos foram combinados nas condições de pH inicial das soluções (pH 3,5 e pH 8,15 para QT e CMQT, respectivamente).

Quando combinadas nos valores de pH correspondentes às condições nas quais QT e CMQT são inicialmente solubilizados pode-se esperar que não ocorra a formação do filme. Isso porque ambas soluções estão próximas ao ponto isoelétrico da espécie de carga oposta (Figura 34) e logo não possuem densidade de carga suficiente para uma interação eletrostática eficiente. Contudo, a obtenção de tais filmes pode estar relacionada ao fato dos polissacarídeos (como a QT) interagirem fortemente através de ligações de hidrogênio, considerando a elevada quantidade de grupos hidroxil presentes no seu esqueleto estrutural.

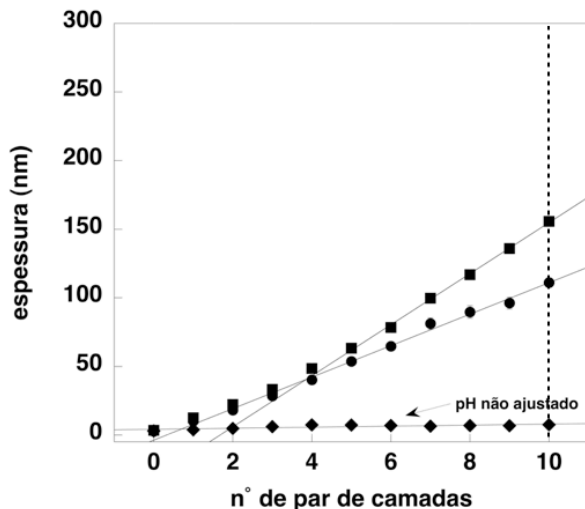


Figura 58. Autoassociação do sistema $(\text{CMQT/QT})_n$ em função do número de par de camada depositado pelo método de **imersão**, medidos por elipsometria. QT **BMM** (quadrados) e QT **MMM** (círculos) foram utilizadas para a obtenção dos filmes LbL. A obtenção do filme LbL formado por $(\text{CMQT/QT})_n$ **BMM** nas condições de pH inicial das soluções está indicada pelos losangos. Os coeficientes angulares das curvas QT **BMM** (18,613 nm/par de camada, $R = 0,999$), QT **MMM** (11,478 nm/par de camada, $R = 0,998$) e $(\text{CMQT/QT BMM})_n$ **pH inicial** (0,377 nm/par de camada, $R = 0,816$) indicam o incremento na espessura por par de camada durante a obtenção do filme LbL.

Considerando os valores de pK_a para os grupos amino da QT (6,3 – 6,5) e para ambos grupos carboxil e amino do derivado CMQT (2,3 e 6,6, respectivamente), valores intermediários de pH ($pH = 6,0$ e $pH = 6,5$, respectivamente) foram escolhidos para as soluções de deposição. Dessa maneira, supõem-se que a densidade de carga para cada um dos dois polieletrólitos é similar. O pH das soluções de deposição desempenha papel importante na associação das multicamadas, conforme demonstrado por RUBNER e SHIRATORI (2000) para o par de polieletrólitos poli(ácido acrílico)/poli(alilamina) $(\text{PAA/PAH})_n$. Ou ainda, GRUNZE *et al.* (2009) que demonstraram a autoassociação de multicamadas de $(\text{PAA/PEI})_n$ com crescimento exponencial em condições variadas de pH (faixa ampla de pH).

No presente trabalho, valores de pH correspondendo a 6,0 e 6,5 levam à redução na densidade total de carga para ambos polieletrólitos ao mesmo tempo que mantem solubilidade suficiente. Essa condição resulta na associação das multicamadas de $(\text{CMQT}/\text{QT})_n$, conforme mostrado na Figura 58. Isso sugere que a combinação das interações eletrostática e ligação de hidrogênio estão envolvidas nas etapas de deposição de ambos polieletrólitos.

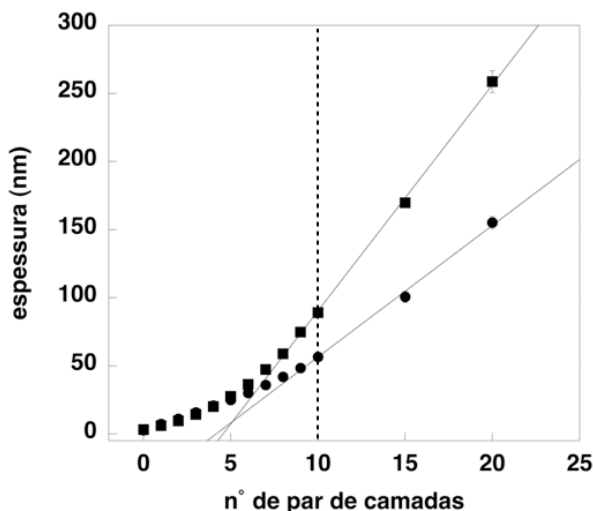


Figura 59. Autoassociação do sistema $(\text{CMQT}/\text{QT})_n$ em função do número de par de camadas depositadas pelo método de **spray**, medidos por elipsometria. QT **BMM** (quadrados) e QT **MMM** (círculos) foram utilizadas para a obtenção dos filmes LbL. Os coeficientes angulares das curvas QT **BMM** (16,598 nm/par de camada, $R = 0,999$), QT **MMM** (9,665 nm/par de camada, $R = 0,998$) indicam o incremento na espessura por par de camada durante a obtenção do filme LbL

Para um número específico de par de camadas (10 PC – denotada pela linha vertical pontilhada) a espessura total dos filmes construídos pelo método de imersão (Figura 58) é maior que os filmes construídos por spray (Figura 59). Esse comportamento tem sido observado para diversos sistemas (SCHLENOFF; DUBAS; FARHAT, 2000; DECHER *et al.*, 2009) e pode estar relacionado ao menor tempo de

contato do líquido com a superfície no caso do spray, ou ainda devido ao efeito de cisalhamento causado pelo jato de spray.

O incremento da espessura por PC depositado (coeficiente angular dos gráficos) foi similar para os filmes com QT **BMM** depositados tanto por imersão (18,6 nm/PC, Figura 58) quanto por spray (16,6 nm/PC, Figura 59). Isso também foi observado para os filmes obtidos com QT **MMM**: 11,5 nm/PC (Figura 58) e 9,7 nm/PC (Figura 59). Para o mesmo método de deposição (imersão ou spray) os filmes obtidos com QT **BMM** resultaram sempre em filmes mais espessos que os filmes obtidos com QT **MMM** por um fator de aproximadamente 1,65. Esse fato é interessante, uma vez que os valores de desacetilação para ambas amostras de QT são similares (**BMM** \approx 83 % e **MMM** \approx 84 %). Para alguns sistemas LbL estudados (WINNIK *et al.*, 2005), a influência da massas molares maiores está relacionada a obtenção de filmes mais espessos.

Em geral, espera-se que as interações do tipo cadeia-cadeia em complexos de polieletrólitos sejam mais fortes no caso de densidades de carga similares (comparáveis) e no caso de cadeias de tamanho próximos. Interações mais fortes renderiam complexos mais densos e menos hidratados. No presente estudo, as densidades de carga foram de aproximadamente 83,5 % para ambas amostras de QT, descartando o efeito pronunciado oriundo das distâncias médias carga-carga ao longo das cadeias dos polieletrólitos.

Ainda para os gráficos mostrados nas Figuras 58 e 59, foi observada a existência de regimes distintos para deposição das multicamadas obtidas com QT **BMM** ou QT **MMM**; sendo exponencial durante a deposição das primeiras camadas seguido de um crescimento linear.

5.7.2. Construção das multicamadas monitorada por microbalança de cristal de quartzo (QCM-D)

A evolução da formação das multicamadas pode também ser monitorada pela mudança nos valores de frequência e dissipação, como mostrado nas Figuras 60 e 61. O incremento de massa no topo da superfície é proporcional à mudança negativa nos valores de frequência (eixo à esquerda do gráfico). Utilizando quitosana com

massas molares distintas uma diferença na quantidade de polímero adsorvida pode também ser observada, onde QT **MMM** não resultou em filmes mais espessos (Figura 60).

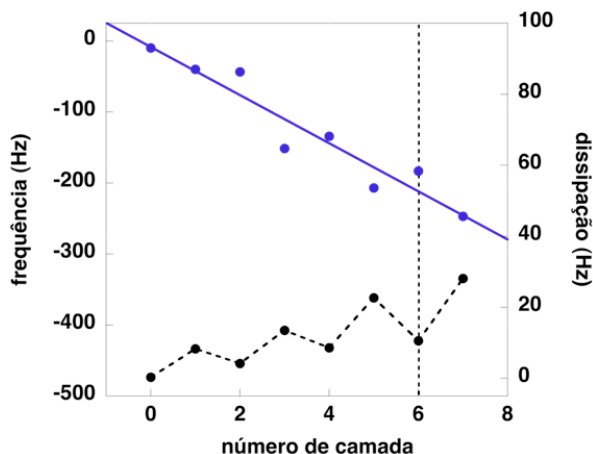


Figura 60. Variação nos valores de frequência (círculos vermelhos, eixo à esquerda) e dissipação (círculos pretos, eixo à direita) durante a deposição das multicamadas do sistema (CMQT/QT **MMM**)_n. O coeficiente angular correspondente à região linear da curva é -33,9 Hz/número de camada ($R = 0,956$). Esses dados são reportados com relação à frequência de ressonância fundamental (5 MHz)

Considerando a variação dos valores de dissipação na Figura 60, o comportamento viscoelástico do filme obtido com QT **BMM** (PSS/QT)_n pode ser relacionado a um sistema rígido e anisotrópico. Logo, foi possível calcular a massa de Sauerbrey de material depositada por camada. A partir do coeficiente angular do gráfico, cujo valor é igual a - 33,9 Hz, a massa média de material depositada por camada resultante foi de 120,0 ng cm⁻².

O comportamento tipo *zig-zag* para os valores de dissipação com a deposição subsequente das camadas pode estar relacionado à perda de material resultante do procedimento de lavagem, ou ainda à perda de água e íons presentes dentro do filme decorrente da formação de novos complexos de polieletrólitos.

O filme obtido com QT **BMM** (Figura 61) mostrou um comportamento distinto tanto com relação à quantidade de polieletrólito adsorvido (frequência) quanto às propriedades viscoelásticas (dissipação) comparado ao filme obtido QT **MMM**.

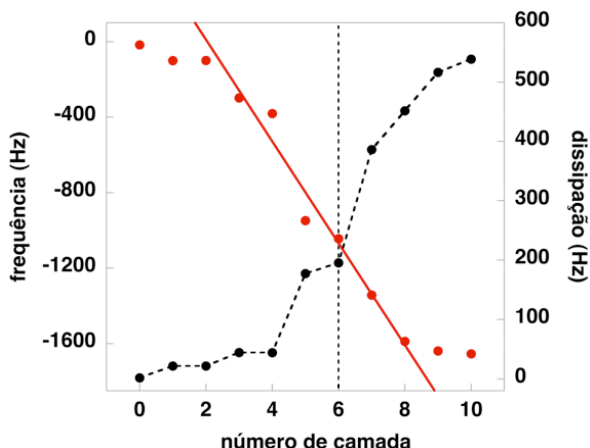


Figura 61. Variação nos valores de frequência (círculos vermelhos, eixo à esquerda) e dissipação (círculos pretos, eixo à direita) durante a deposição das multicamadas do sistema (CMQT/QT **BMM**)_n. O coeficiente angular correspondente à região linear da curva é $-269,5 \text{ Hz/número de camada}$ ($R = 0,982$). Esses dados são reportados com relação à frequência de ressonância fundamental (5 MHz)

No entanto, a aparente “estabilização” nos valores de frequência a partir da deposição da oitava camada pode ser correlacionada a um artefato associado ao método de QCM. Para esses valores de espessura, a excitação mecânica do filme não alcança mais a superfície e assim o aparelho de QCM não “enxerga” as novas camadas que estão sendo depositadas.

De qualquer maneira, como observado nos dados de elipsometria, esse sistema apresenta um crescimento das multicamadas com dois regimes distintos: uma região inicial exponencial seguida por uma região linear.

Mesmo a equação de Sauerbrey sendo utilizada para calcular a massa adsorvida de filmes considerados rígidos e com baixos valores de

dissipação (SAUERBREY, 1959), ela foi considerada neste trabalho para estimativa da quantidade de polieletrólito adsorvido por camada usando a estágio linear da formação das multicamadas (3 a 8). Considerando o coeficiente angular dessa região, a massa adsorvida calculada por camada foi de $954,1 \text{ ng cm}^{-2}$.

O comportamento e os valores de dissipação bastante elevados desse filme (eixo à direita no gráfico, Figura 61) indicam a capacidade dessa superestrutura com relação à absorção e retenção de água. Rubner *et al.* (2011) reportaram a obtenção de um filme LbL de composição semelhante formado por quitosana e carboximetilcelulose (QT/CMC)_n. Esse sistema apresentou elevada capacidade de acomodar as moléculas de água dentro da sua estrutura, decorrente da grande quantidade de grupos hidroxil e carboxil presentes na estrutura da cadeia principal capazes de interagir por ligações de hidrogênio e dipolo-dipolo.

5.7.3. Morfologia dos filmes de multicamadas analisada por microscopia de força atômica (AFM)

A possibilidade de controlar a morfologia superficial de tais filmes LbL tem sido foco de estudos no que diz respeito a correlação entre as características topológicas com o tamanho dos complexos de polieletrólitos em solução. Recentemente a combinação dos polieletrólitos poli(fosfato de sódio) e poli(alilamina) (PSP/PAH)_n resultou num filme de multicamadas de comportamento inesperado com relação ao potencial zeta e a morfologia em função do número de camadas depositadas (DECHER *et al.*, 2010). BALL *et al.* (2012) também demonstraram, através de mudanças na morfologia, a influência da natureza química dos polieletrólitos na cinética de adsorção e processos de troca no filme.

Na Figura 62 está apresentado a morfologia dos filmes (CMQT/QT)_n construídos pelo método de imersão em função do número de PC (n = 2; 5; 10 e 20) utilizando amostras de QT de massa molar diferente (QT **BMM** ou QT **MMM**). De maneira geral, a formação dos filmes multicamadas tipo LbL parece começar com a deposição

consecutiva de estruturas granulares conforme a complexação dos polieletrólitos de cargas opostas ocorre na superfície do substrato.

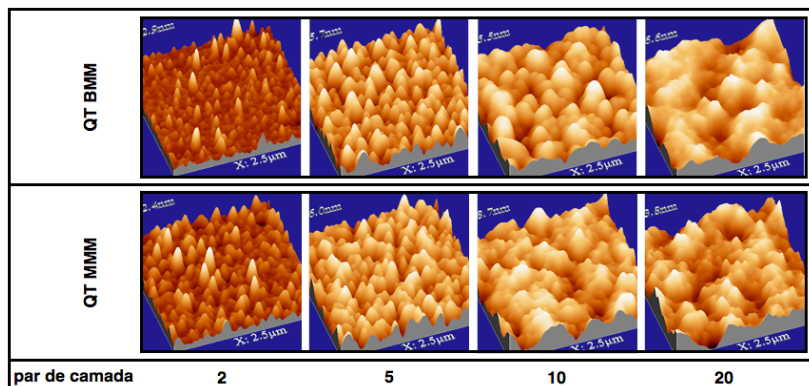


Figura 62. Imagens em 3D da morfologia superficial dos filmes LbL compostos de 2; 5; 10 e 20 PC do sistema (CMQT/QT)_n utilizando QT **BMM** (parte superior) ou QT **MMM** (parte inferior). Todos esses filmes possuem QT como camada mais externa (*carga superficial positiva*) e área de varredura correspondente à 2,5 µm x 2,5 µm

A morfologia a partir de 5 PC tem característica mais uniforme (distribuição uniforme da variação das alturas ao longo da superfície). Com o aumento do número de PC depositadas pode-se dizer que ocorre a coalescência das “ilhas” (estruturas granulares) observadas para os filmes crescidos até 5 PC, com o recobrimento (preenchimento) uniforme da superfície independentemente da massa molar da QT utilizada. Para os filmes obtidos com QT **BMM** essa informação pode ser ainda correlacionada com os dados de espessura (Figura 58), onde os filmes construídos pelo método de imersão, contendo número similar de PC, começam a apresentar estratificação interna (nanoestruturação).

A Figura 63 e 64 mostram as imagens de AFM e o perfil de linha superficial dos filmes (CMQT/QT)_n indicando que as estruturas granulares presentes na superfície aumentam de tamanho com o aumento do número de camadas. Além disso, os filmes obtidos com QT

MMM (Figura 63) exibiram estruturas levemente maiores que os filmes obtidos com QT **BMM** (Figura 64).

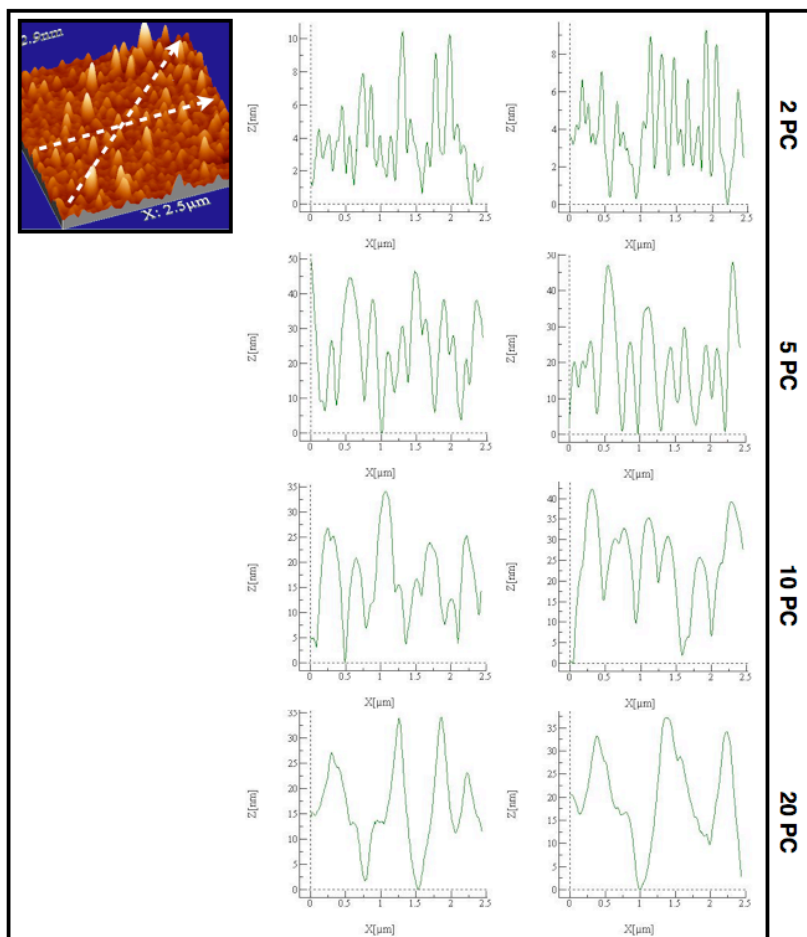


Figura 63. Imagens da morfologia superficial e perfil de linha dos filmes LbL compostos de 2; 5; 10 e 20 PC do sistema (CMQT/QT)_n utilizando QT **BMM**. Todos os filmes possuem QT como camada mais externa (*carga superficial positiva*). As linhas que resultaram nos perfis da morfologia superficial estão indicadas pelas linhas pontilhadas brancas das imagens 3D dos filmes contendo 2 PC (área de varredura 2,5 μm x 2,5 μm)

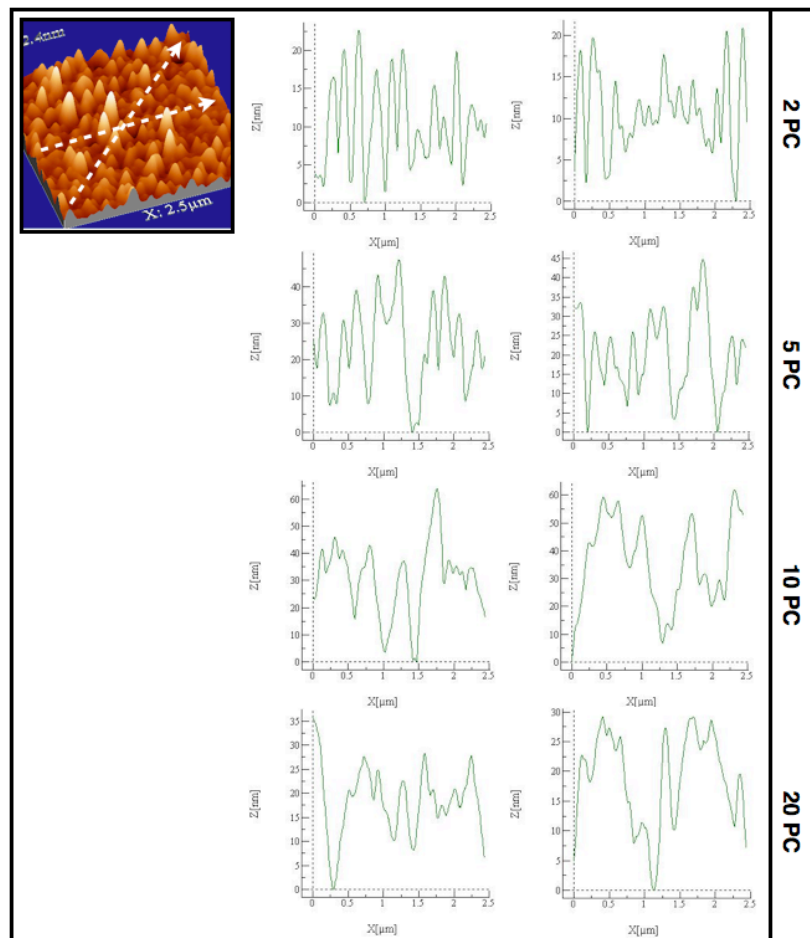


Figura 64. Imagens da morfologia superficial e perfil de linha dos filmes LbL compostos de 2; 5; 10 e 20 PC do sistema $(\text{CMQT/QT})_n$ utilizando QT **MMM**. Todos os filmes possuem QT como camada mais externa (*carga superficial positiva*). As linhas que resultaram nos perfis da morfologia superficial estão indicadas pelas linhas pontilhadas brancas das imagens 3D dos filmes contendo 2 PC (área de varredura $2,5 \mu\text{m} \times 2,5 \mu\text{m}$)

As imagens de AFM desses mesmos filmes contendo CMQT (poliânion) como camada mais externa estão mostrados na Figura 65. Em princípio as diferenças topológicas são pequenas. Nota-se, no entanto, a presença de estruturas granulares sutilmente maiores nos filmes com maior número de PC depositados e contendo QT (policátion) como camada mais externa. Filmes contendo CMQT como camada terminal apresentaram uma maior quantidade de estruturas granulares pequenas para PC = 20,5.

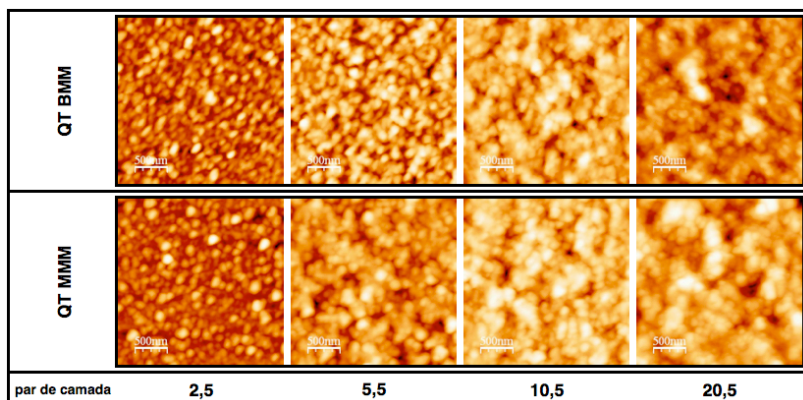


Figura 65. Morfologia superficial dos filmes LbL compostos de 2,5; 5,5; 10,5 e 20,5 pares de camadas do sistema (CMQT/QT)_n utilizando quitosana de baixa massa molecular (QT **BMM**) ou média massa molecular (QT **MMM**). Os valores decimais relativos ao número de PC significa que todos os filmes possuem CMQT como camada mais externa (*carga superficial negativa*) (área de varredura 2,5 µm x 2,5 µm)

Além disso, a camada externa de CMQT não induz mudanças significativas na rugosidade média da superfície (RMS) com relação a massa molar da QT utilizada na obtenção das multicamadas (Tabela 7).

Tabela 7. Valores de RMS para os filmes obtidos com **QT BMM** ou **QT BMM**, contendo o policátion (**QT**) ou o poliânion (**CMQT**) como camada mais externa

RMS (nm)				
Sistema	2 LP	5 LP	10 LP	20 LP
(CMQT/QT BMM)	3,2	12,0	10,0	8,7
(CMQT/QT MMM)	6,5	11,0	14,0	8,5
	2.5 LP	5.5 LP	10.5 LP	20.5 LP
(CMQT/QT BMM)	7,6	12,0	16,0	11,0
(CMQT/QT MMM)	6,9	11,0	13,0	11,0

A Figura 66 apresenta as imagens de AFM dos filmes obtidos em condições onde o pH das soluções de polieletrólitos está fora da faixa considerada ideal para a autoassociação das multicamadas (pH 6,0 – 6,5). Essas imagens também mostraram um efeito de auto-padronização (*self-patterning*) nos quais o tamanho das estruturas granulares aumenta com número de pares de camada depositados. De maneira similar aos filmes LbL formados por (PSP/PAH)_n (DECHER *et al.*, 2010), os filmes obtidos sob estas condições pode resultar em um caso novo e interessante de auto-padronização, onde o tamanho dos maiores agregados granulares está na ordem de 100 – 150 nm.

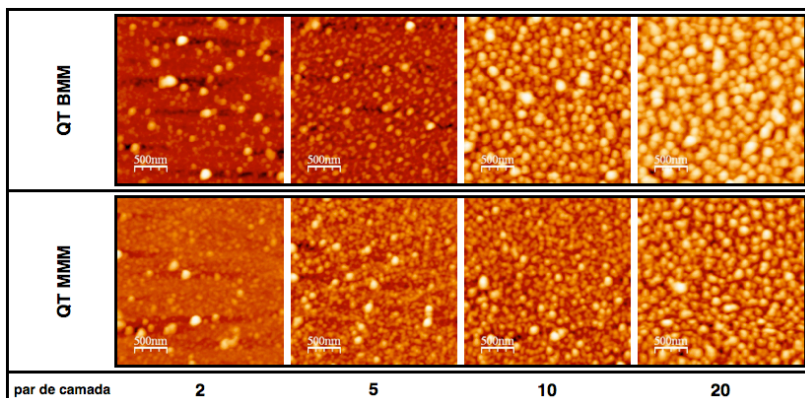


Figura 66. Morfologia superficial dos filmes LbL compostos de 2; 5; 10 e 20 pares de camadas do sistema $(\text{CMQT}/\text{QT})_n$ depositadas no pH inicial das soluções utilizando QT **BMM** ou QT **MMM**. Todos os filmes possuem QT como camada mais externa (*carga superficial positiva*) (área de varredura $2,5 \mu\text{m} \times 2,5 \mu\text{m}$)

Esse tipo de controle da morfologia superficial pode ser surpreendente no sentido de que fenômenos dinâmicos superficiais podem conduzir a diminuição da rugosidade da superfície com o aumento do número de camadas. Não é esperado que essa padronização superficial cineticamente “presa” (imóvel) sofra mudanças consideráveis na sua morfologia.

Grunze *et al.* (2010) descreve as propriedades antiaderentes do filme LbL formado por $(\text{PAA}/\text{PEI})_n$. Nesse sistema a adesão de zoósporos de *Ulva* (células) foi controlado pelo tamanho da estrutura morfológica superficial, com o menor nível de adesão acontecendo para as estruturas (superfície) da mesma ordem de tamanho dessas células ($\approx 2 \mu\text{m}$).

Assim como observado para o sistema $(\text{CMQT}/\text{PAH})_n$, as estruturas granulares na superfície se tornam maiores com o aumento da espessura. Isso é um pouco inesperado, uma vez que essas estruturas superficiais estando sujeitas a mudanças (dinâmica dos complexos de polieletrólitos) resultariam em superfícies mais regulares (lisas) após a deposição de algumas camadas devido a ação da tensão superficial. A regularização da superfície (*smoothing*) com o aumento da espessura foi observado para filmes LbL formados por ácido hialurônico e poli(L-lisina) $(\text{HA}/\text{PLL})_n$ (PICART *et al.*, 2001).

Independentemente disso, o fato de ser possível associar duas cadeias pequenas de polieltrólitos de cargas opostas com estrutura química semelhante resultando em filmes de multicamadas hidratadas que atingem espessuras consideráveis em um número pequeno de etapas é promissor para aplicações biológicas.

6. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados apresentados, a técnica de LbL foi eficiente para a obtenção de filmes de multicamadas utilizando as combinações de polieletrólitos aqui propostas.

A modificação química da QT para obtenção do derivado CMQT produziu um polieletrólito zwitteriônico, que tem suas propriedades controladas com o ajuste das condições de pH do meio.

O método de deposição, concentração de polieletrólito, massa molar, pH e força iônica do meio influenciaram na espessura e morfologia superficial dos filmes LbL obtidos. A maioria dos filmes apresentou regimes de crescimento distintos; com uma região exponencial durante a deposição das primeiras camadas seguida de uma região linear (estratificação das multicamadas). Em determinadas condições a diferença na massa molar do polieletrólito resultou em filmes com diferença significativa na espessura (cerca de 9 vezes).

As análises de AFM mostraram que a morfologia superficial dos filmes LbL obtidos com as combinações (CMQT/PAH)_n e (CMQT/QT)_n podem ser facilmente controladas a partir de ajustes experimentais. O tamanho e a distribuição das estruturas formadas (morfologia) são controladas pelo número de camadas depositadas, bem como o pH e concentração de NaCl do meio no qual os filmes são obtidos.

A possibilidade de controlar o tamanho das estruturas para a auto-padronização de uma superfície é um aspecto novo e interessante dentro da área de LbL. Isso porque essa técnica é facilmente aplicável para superfícies grandes que são difíceis de padronizar com métodos de baixo custo.

REFERÊNCIAS

AKASHI, M.; KAMCI, D.; AJIRO, H.; HONGO, C. Dynamics of polymer chains in porous thin films prepared by layer-by-layer assembly of isotactic poly(methyl metacrilate) and syndiotactic poly(methacrylic acid). **Chem. Lett.**, Tokyo, v. 37, n. 3, p. 332-333, Mar. 2008.

AKASHI, M.; SERIZAWA, T.; YAMASHITA, H.; FUJIWARA, T.; KIMURA, Y. Stepwise assembly of enantiomeric poly(lactide)s on surfaces. **Macromolecules**, Washington, v. 34, n. 6, p. 1996-2001, Mar. 2001.

AL-BAT'HI, S.; BUHARI, K. A.; LATIFF, M. I. Zinc-Based Semiconductors/Polymer Thin Films Junction for Photovoltaic Application. **Int. J. Photoenergy**, New York, Article Number: 748383, 2012.

AN, N. T.; THIEN, D. T.; DONG, N. T.; LE DUNG, P. Water-soluble N-carboxymethylchitosan derivatives: Preparation, characteristics and its application. **Carbohydr. Polym.**, Oxford, v. 75, n. 3, p. 489-497, Feb. 2009.

ANTONOV, Y. A.; MOLDENAERS, P. Strong polyelectrolyte – Induced mixing in concentrated biopolymer aqueous emulsions. **Food Hydrocolloid.**, Oxford, v. 28, n. 1, p. 213-223, Jul. 2012.

ARIGA, K.; HILL, J. P.; JI, Q. M. Layer-by-layer assembly as a versatile bottom-up nanofabrication technique for exploratory research and realistic application. **Phys. Chem. Chem. Phys.**, Cambridge, v. 9, n. 19, p. 2319-2340, 2007.

ARAVIND. U. K.; GEORGE, G.; BABURAJ, M. S.; THOMAS, S.; THOMAS, A. P.; ARAVINDAKUMAR, C. T. Treatment of industrial effluents using polyelectrolyte membranes. **Desalination**, Amsterdam, v. 252, n. 27, p. 27-32, Mar. 2010.

AROF, A. K.; MOHAMAD, S. A.; YAHYA, R.; IBRAHIM, Z. A. Photovoltaic activity of ZnTe/PEO-Chitosan blend electrolyte junction. **Sol. Energ. Mat. Sol. C.**, Amsterdam, v. 91, n. 13, p. 1194-1198, Aug. 2007.

AROF, A. K.; BURDAIDAH, M. H.; TEO, L. P.; MAJID, S. R.; YAHYA, R.; TAHA, R. M. Characterizations of Chitosan-Based Polymer Electrolyte Photovoltaic Cells. **Int. J. Photoenergy**, New York, Article Number: 805836, 2010.

ASNACIOS, A.; LANGEVIN, D.; ARGILLIER, J. F. Complexation of cationic surfactant and anionic polymer at the air-water interface. **Macromolecules**, Washington, v. 29, n. 23, p. 7412-7417, Nov. 1996.

AZZAM, R. M. A.; BASHARA, N. M. **Ellispometry and Polarized Light**. Amsterdam, North-Holland Publishing Co., 1977.

BALABAN, R. D.; ALVES, K. D.; VIDAL, R. R. L. Chitosan derivatives with thickening properties obtained by reductive alkylation. **Mat. Sci. Eng. C – Bio. S.**, Amsterdam, v. 29, n. 2, p. 641-646, Mar. 2009.

BALL, V.; LAACHACHI, A.; TONIAZZO, V.; RUCH, D. Influence of the nature of the polycation on the adsorption kinetics and on exchange processes in polyelectrolyte multilayer films. **J. Colloid Interface Sci.**, San Diego, v. 366, n. 1, p. 96-104, Jan. 2012.

BENKIRANE-JESSEL, N.; FACCA, S.; GILLET, P.; STOLTZ, J. F.; NETTER, P.; MAINARD, D.; VOEGEL, J.-C. Three-dimensional sprayed active biological gel and cells for tissue engineering application. **Bio-Med. Mater. Eng.**, Amsterdam, v. 18, n. 4-5, p. 231-235, 2008.

BEPPU, M. M.; VIEIRA, R. S.; AIMOLI, C. G.; SANTANA, C. C. Crosslinking of chitosan membranes using glutaraldehyde: Effect of ion permeability and water absorption. **J. Mem. Sci.**, Amsterdam, v. 301, n. 1-2, p. 126-130, Sep. 2007.

BEPPU, M. M.; BARONI, P.; VIEIRA, R. S.; MENEGHETI, E.; SILVA, M. C. G. Evaluation of batch adsorption of chromium ions on natural and crosslinked chitosan membranes. **J. Harzard. Mater.**, Amsterdam, v. 152, n. 3, p. 1155-1163, Apr. 2008.

BERGBREITER, D. E.; ALLEN, A. L.; TAN, K. J.; FU, H.; BATTEAS, J. D. Solute- and Temperature-Responsive “Smart” Grafts and Supported Membranes Formed by Covalent Layer-by-Layer Assembly. **Langmuir**, Washington, v. 28, n. 11, p. 5237-5242, Mar. 2012.

BINNING, G.; QUATE, C. F.; GERBER, C. Atomic Force Microscope. **Phys. Rev. Lett.**, College PK, v. 56, n. 9, p. 930-933, Mar. 1986.

BLODGETT, K. B. Monomolecular films of fatty acids on glass. **J. Am. Chem. Soc.**, Washington, v. 56, n. 2, p. 495-495, Feb. 1934.

BLODGETT, K. B. Films built by depositing successive monomolecular layer on solid surface. **J. Am. Chem. Soc.**, Washington, v. 57, n. 6, p. 1007-1022, Jun. 1935.

BOUE, F.; MORFIN, I.; BUHLER, E.; COUSIN, F.; GRILLO, I. Rodlike Complexes of Polyelectrolyte (Hyaluronan) and a Protein (Lysozyme) Observed by SANS. **Biomacromolecules**, Washington, v. 12, n. 4, p. 859-870, Apr. 2011.

BOURDILLON, C.; DEMAILLE, C.; MOIROUX, J.; SAVEANT, J. M. Step-by-step immunological construction of a fully active multilayer enzyme electrode. **J. Am. Chem. Soc.**, Washington, v. 116, n. 22, p. 10328-10329, Nov. 1994.

BRETT, C. M. A.; BARSAN, M. M.; PINTO, E. M. Interaction between myoglobin and hyaluronic acid in layer-by-layer structures – An electrochemical study. **Electrochim. Acta**, Oxford, v. 55, n. 22, p. 6358-6366, Sep. 2010.

BRUENING, M. L.; KIDAMBI, S.; DAI, J. H.; LI, J. Selective Hydrogenation by Pd nanoparticles embedded in polyelectrolyte multilayers. **J. Am. Chem. Soc.**, Washington, v. 126, n. 9, p. 2658-2659, Mar. 2004.

CAI, K. Y.; HU, Y.; WANG, Y. L.; YANG, L. Build up of multilayered thin films with chitosan/DNA pairs on poly(D,L-lactic acid) films: Physical chemistry and sustained release behavior. **J. Biomed. Mater. Res. Part A**, Hoboken, v. 84A, n. 2, p. 516-522, Feb. 2008.

CAMPANA-FILHO, S. P.; DE ABREU, F. R. Characteristics and properties of carboxymethylchitosan. **Carbohydr. Polym.**, Oxford, v. 75, n. 2, p. 214-221, Jan. 2009.

CANEVAROLO JR., S. V. **Ciência dos Polímeros**, São Carlos , Ed. ARTLIDER, 2002.

CARUSO, F.; JOHNSTON, A. P. R.; READ, E. S. DNA multilayer films on planar and colloidal supports: Sequential assembly like-charged polyelectrolytes. **Nano Lett.**, Washington, v. 5, n. 5, p. 953-956, May 2005.

CARUSO, F.; JOHNSTON, A. P. R.; MITOMO, H.; READ, E. S. Compositional and structural engineering of DNA multilayers films. **Langmuir**, Washington, v. 22, n. 7., p. 3251-3258, Mar. 2006.

CARUSO, F.; SUCH, G. K.; QUINN, J. F.; QUINN, A.; TJIPTO, E. Assembly of ultrathin polymer multilayer films by click chemistry. **J. Am. Chem. Soc.**, Washington, v. 128, n. 29, p. 9318-9319, Jul. 2006.

CARUSO, F.; LEE, L.; CAVALIERI, F.; JOHNSTON, A. P. R. Influence of Salt Concentration on the Assembly of DNA Multilayer Films. **Langmuir**, v. 26, n. 5, p. 3415-3422, Mar. 2010.

CARUSO, F.; BECKER, A. L.; JOHNSTON, A. P. R. Layer-By-Layer-Assembled Capsules and Film for Therapeutic Delivery. **Small**, Weinheim, v. 6, n. 17, p. 1836-1852, Sep. 2010.

CASELI, L.; DOS SANTOS, D. S.; AROCA, R. F.; OLIVEIRA, O. N. Controlled fabrication of gold nanoparticles biomediated by glucose oxidase immobilized on chitosan layer-by-layer films. **Mat. Sci. Eng. C – Bio. S.**, Amsterdam, v. 29, n. 5, p. 1687-1690, Jun. 2009.

CASELI, L.; ZANON, N. C. M.; OLIVEIRA, O. N. Immobilization of uricase enzyme in Langmuir and Langmuir-Blodgett films of fatty acid: Possible use as a uric acid sensor. **J. Colloid Interface Sci.**, San Diego, v. 373, p. 69-74, May 2012.

CHAN-PARK, M. B.; ZHU, A. P.; FANG, N.; CHAN, V. Interaction between O-carboxymethylchitosan and dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine bilayer. **Biomaterials**, Oxford, v. 26, n. 34, p. 6873-6879, Dec. 2005.

CHEN, X.; FENG, Z. C.; SHAO, Z. Z.; YAO, J. R.; HUANG, Y. F. Protein adsorption and separation with chitosan-based amphoteric membranes. **Polymer**, Oxford, v. 50, n. 5, p. 1257-1263, Feb. 2009.

CHEN, X. G.; WANG, L. C.; LIU, C. S.; LI, P. W.; ZHOU, P. M. Dissociation behavior of carboxyl and amine groups on carboxymethyl-chitosan in aqueous system. **J. Polym. Sci. Pol. Phys.**, Hoboken, v. 46, n. 14, p. 1419-1429, Jul. 2008.

CHUMANOV, G.; MALYNYCH, S.; LUZINOV, I. Poly(vinyl pyridine) as a universal surface modifier for immobilization of nanoparticles. **J. Phys. Chem. B**, Washington, v. 106, n. 6, p. 1280-1285, Feb. 2002.

COHEN STUART, M. A.; FLEER, G. J.; LYKLEMA, J.; NORDE, W.; SCHEUTJENS, J. M. H. Adsorption of Ions, Polyelectrolytes and Proteins. **Adv. Colloid Interfac.**, Amsterdam, v. 34, p. 477-535, Jan. 1991.

COHEN, R. E.; NOGUEIRA, G. M.; BANERJEE, D.; RUBNER, M. F. Spray-Layer-by-Layer Assembly Can More Rapidly Produce Optical-Quality Multistack Heterostructures. **Langmuir**, Washington, v. 27, n. 12, p. 7860-7867, Jun. 2011.

COHEN, R. E.; LEE, H.; MENSIRE, R.; RUBNER, M. F. Strategies for Hydrogen Bonding Based Layer-by-Layer Assembly of Poly(vinyl alcohol) with Weak Polyacids. **Macromolecules**, Washington, v. 45, n. 1, p. 347-355, Jan. 2012.

COLBY, R. H.; BORIS, D. C. Rheology of sulfonated polystyrene solutions. **Macromolecules**, Washington, v. 31, n. 17, p. 5746-5755, Aug. 1998.

CUI, T.; LEE, D. Layer-by-Layer Self-Assembly of Single-Walled Carbon Nanotubes with Amine-Functionalized Weak Polyelectrolytes for

Electrochemically Tunable pH Sensitivity. **Langmuir**, Washington, v. 27, n. 7, p. 3348-3354, Apr. 2011.

DA SILVA, W. C.; LUZ, R. A. D.; MARTINS, M. V. A.; MAGALHAES, J. L.; SIQUEIRA, J. R.; ZUCOLOTTI, V.; OLIVEIRA, O. N.; CRESPILO, F. N. Supramolecular architectures in layer-by-layer films of single-walled carbon nanotube, chitosan and cobalt (II) phthalocyanine. **Mater. Chem. Phys.**, Lausanne, v. 130, n. 3, p. 1072-1077, Nov. 2011.

DAUTZENBERG, H.; JAEGER, W.; KÖTZ, J.; PHILIPP, B.; SEIDEL, C.; STSCHERBINA, D. **Polyelectrolytes: formation, characterization and application**. v. 38, n. 1, p. 106, New York, Hanser Gardner Publications, 1994.

DAUTZENBERG, H. **Polyelectrolyte Complex Formation in Highly Aggregating Systems: Methodical Aspects and General Tendencies**. in Physical Chemistry of Polyelectrolytes. CRC Press, 2001.

DECHER, G.; HONG, J. D.; SCHMITT, J. Buildup of ultrathin multilayers films by a self-assembly process: alternating adsorption of anionic and cationic polyelectrolytes on charged surfaces. **Thin Solid Films**, Lausanne, v. 210-211, parte 2, p. 831-835, Apr. 1992.

DECHER, G. Fuzzy nanoassemblies: toward layered polymeric multicomposites. **Science**, Washington, v. 277, p. 1232-1237, Aug. 1997.

DECHER, G.; CASSIER, T.; LOWACK, K. Layer-by-layer assembly protein/polymer hybrid films: nanoconstruction via specific recognition. **Supramol. Sci.**, Oxford, v. 5, n. 3-4, p. 309-315, Jul.-Sep. 1998.

DECHER, G.; IZQUIERDO, A.; ONO, S. S.; VOEGEL, J.-C.; SCHAAF, P. Dipping versus spraying: Exploring the deposition conditions for speeding up layer-by-layer assembly. **Langmuir**, Washington, v. 21, n. 16, p. 7558-7567, Aug. 2005.

DECHER, G.; FÉLIX, O.; ZHENG, Z. Q.; COUSIN, F. Are sprayed LbL-films stratified? A first assessment of the nanostructure of spray-assembled multilayers by neutron reflectometry. **CR Acad. Sci. II C**, Paris, v. 12, n. 1-2, p. 225-234, Jan.-Feb. 2009.

DECHER, G.; SCHNEIDER, G. F.; SUBR, V.; ULBRICH, K. Multifunctional Cytotoxic Stealth Nanoparticles. A Model Approach with Potential for Cancer Therapy. **Nano Letters**, Washington, v. 9, n. 2, p. 636-642, Feb. 2009.

DECHER, G.; GILL, R.; MAZHAR, M.; FÉLIX, O. Covalent Layer-by-Layer Assembly and Solvent Memory of Multilayer Films from Homobifunctional Poly(dimethylsiloxane). **Angew. Chem.**, Weinheim, v. 49, n. 35, p. 6116-6119, 2010.

DECHER, G.; CINI, N.; BALL, V.; TULUN, T. Step-by-step Assembly of Self-Patterning Polyelectrolytes Films Violating (Almost) All Rules of Layer-by-Layer Deposition. **J. Am. Chem. Soc.**, Washington, v. 132, n. 24, p. 8264-8265, Jun. 2010.

DECHER, G.; DONTSOVA, D.; KELLER, V.; KELLER, N.; STEFFANUT, P.; FÉLIX, O. Photocatalytically Active Polyelectrolyte/Nanoparticle Films for the Elimination of a Model Odorous Gas. **Macromol. Rapid Comm.**, Malden, v. 32, n. 15, p. 1145-1149, Aug. 2011.

DELIGOZ, H.; YILMAZTURK, S.; ERCAN, N. Influence of LbL surface modification on oxygen cross-over in self-assembled thin composite membranes. **Appl. Surf. Sci.**, Amsterdam, v. 258, n. 7, p. 3139-3146, Jan. 2012.

DE SOUZA, N. C.; BRITO, J. B.; GOMES, D. J. C.; JUSTINA, V. D.; LIMA, A. M. F.; OLIVATI, C. A.; SILVA, J. R. Nanostructured films from phthalocyanine and carbon nanotubes: Surface morphology and electrical characterization. **J. Colloid Interface Sci.**, San Diego, v. 367, p. 467-471, Feb. 2012.

DONATH, E.; QIU, X. P.; LEPORATTI, S.; MOHWALD, H. Studies on drug release properties of polysaccharide multilayers encapsulated

ibuprofen microparticles. **Langmuir**, Washington, v. 17, n. 17, p. 5375-5380, Aug. 2001.

DONATH, E.; SUKHORUKOV, G. B.; LICHTENFELD, H.; KNIPPEL, E.; KNIPPEL, M.; BUDDE, A.; MOHWALD, H. Layer-by-layer self assembly of polyelectrolytes on colloidal particles. **Colloid Surface A**, Amsterdam, v. 137, n. 1-3, p. 253-266, Jun. 1998.

DU, Y.; CHEN, L. Y.; TIAN, Z. G. Synthesis and pH sensitivity of carboxymethyl chitosan-based polyampholyte hydrogels for protein carrier matrices. **Biomaterials**, Oxford, v. 25, n. 17, p. 3725-3732, Aug. 2004.

DUBIN, P. L.; PARK, J. M.; MUHOBERAC, B. B.; XIA, J. L. Effects of protein heterogeneity in protein-polyelectrolyte complexation. **Macromolecules**, Washington, v. 25, n. 1, p. 290-295, Jan. 1992.

DUBIN, P. L.; WANG, Y. Capillary modification by noncovalent adsorption: Effects of polymer molecular weight and adsorption ionic strength. **Anal. Chem.**, Washington, v. 71, n. 16, p. 3463-3468, Aug. 1999.

ELIAS, H.-G. **Macromolecules 2 – Synthesis, Materials and Technology**, New York, PLENUM PRESS, 1984.

EL-SHERBINY, I. M. Synthesis, characterization and metal uptake capacity of a new carboxymethyl chitosan derivative. **Eur. Polym. J.**, Oxford, v. 45, n. 1, p. 199-210, Jan. 2009.

FENDLER, J. H.; KOTOV, N. A.; DÉKÁNY, I. Ultrathin Graphite Oxide-Polyelectrolyte Composites Prepared by Self-Assembly: Transition Between Conductive and Non-Conductive States. **Adv. Mater.**, Florida, v. 8, n. 8, p. 637-641, Aug. 1996.

FREITAS, R. A.; MIRANDA, M. E. S.; MARCOLLA, C.; RODRIGUES, C. A.; WILHELM, H. M.; SIERAKOWSKI, M. R.; BRESOLIN, T. M. B. Chitosan and N-Carboxymethylchitosan: I. The role of N-carboxymehtylation of

chitosan in the thermal stability and dynamic mechanical properties of its films. **Polym. Int.**, West Sussex, v. 55, n. 8, p. 961-969, Aug. 2006.

FUCHS, A.; KILLMANN, E. Adsorption of polyelectrolytes on colloidal latex particles, electrostatic interactions and stability behavior. **Colloid Polym. Sci.**, New York, v. 279, n. 1, p. 53-60, Jan. 2001.

GAO, C. Y.; ZHU, Y. B.; HE, T.; LIU, X. Y.; SHEN, J. C. Layer-by-Layer assembly to modify poly(L-lactic acid) surface toward improving its cytocompatibility to human endothelial cells. **Biomacromolecules**, Washington, v. 4, n. 2, p. 446-452, Mar-Apr. 2003.

GARDLUND, L.; WAGBERG, L.; GERNANDT, R. Polyelectrolyte complexes for surface modification of wood fibers II. Influence of complexes on wet and dry strength of paper. **Colloid Surface A**, Amsterdam, v. 218, n. 3, p. 137-149, May 2003.

GE, H. C.; LUO, D. K. Preparation of carboxymethyl chitosan in aqueous solution under microwave irradiation. **Carbohydr. Res.**, Oxford, v. 340, n. 7, p. 1351-1356, May 2005.

GORSKI, W.; ZHANG, M. G.; SMITH, A. Carbon nanotube-chitosan system for electrochemical sensing based on dehydrogenase enzymes. **Anal. Chem.**, Washington, v. 76, n. 17, p. 5045-5050, Sep. 2004.

GRANT, S. B.; WALKER, H. W. Role of polymer flexibility in the stabilization of colloidal particles by model anionic polyelectrolytes. **J. Colloid Interface Sci.**, San Diego, v. 179, n. 2, p. 552-560, May 1996.

GRANT, S. B.; WALKER, H. W. Factors influencing the flocculation of colloidal particles by a model anionic polyelectrolyte. **Colloid Surface A**, Amsterdam, v. 119, n. 2-3, p. 229-239, Dec. 1996.

GRUNLAN, J. C.; PRIOLO, M. A.; HOLDER, K. M.; GAMBOA, D. Influence of Clay Concentration on the Gas Barrier of Clay-Polymer Nanobrick Wall Thin Film Assemblies. **Langmuir**, Washington, v. 27, n. 19, p. 12106-12114, Oct. 2011.

GRUNLAN, J. C.; LAUFER, G.; KIRKLAND, C.; CAIN, A. A. Clay-Chitosan Nanobrick Walls: Completely Renewable Gas Barrier and Flame-Retardant Nanocoatings. **ACS Appl. Mater. Interf.**, Washington, v. 4, n. 3, p. 1643-1649, Mar. 2012.

GU, J.; BULLWINKEL, M. D.; CAMPBELL, G. A. Measurement and modeling of solvent removal for spin coating. **Polym. Eng. Sci.**, Stanford, v. 36, n. 7, p. 1019-1026, Apr. 1996.

GUO, Z. Y.; CHEN, R.; XING, R. E.; LIU, S.; YU, H. H.; WANG, P. B.; LI, C. P.; LI, P. C. Novel derivatives of chitosan and their antifungal activities in vitro. **Carbohydr. Res.**, Oxford, v. 341, n. 3, p. 351-354, Feb. 2006.

GRUNZE, M.; FU, J. H.; SHEN, L. Y.; KUELLER, A.; ROSENHAHN, A.; SHEN, J. C.; JI, J. **Langmuir**, Washington, v. 25, n. 2, p. 672-675, Jan. 2009.

HABERSKA, K.; RUZGAS, T. Polymer multilayer film formation studied by in situ ellipsometry and electrochemistry. **Bioelectrochemistry**, Lausanne, v. 76, n. 1-2, p. 153-161, Sep. 2009.

HALL, D. B.; UNDERHILL, P.; TORKELOSON, J. M. Spin coating of thin and ultrathin film polymer films. **Polym. Eng. Sci.**, Standford, v. 38, n. 12, p. 2039-2045, Dec. 1998.

HAMMOND, P. T. Form and function in multilayer assembly: New applications at the nanoscale. **Adv. Mater.** Malden, v. 16, n. 15, p. 1271-1293, Aug. 2004.

HAMMOND, P. T.; KIM, B.-S.; PARK, S. W. Hydrogen-Bonding Layer-by-Layer Assembled Biodegradable Polymeric Micelles as Drug Delivery Vehicles from Surfaces. **ACS Nano**, Washington, v. 2, n. 2, p. 386-392, Feb. 2008.

HAMMOND, P. T.; KIM, B.-S.; LEE, H.; MIN, Y. H.; POON, Z. Hydrogen-bonded multilayer of pH-responsive polymeric micelles with tannic acid for surface drug delivery. **Chem. Commun.**, Cambridge, n. 28, p. 4194-4196, 2009.

HAMMOND, P. T.; KIM, B.-S.; SMITH, R. C.; POON, Z. MAD (Multiagent Delivery) Nanolayer: Delivering Multiple Therapeutics from Hierarchically Assembled Surface Coatings. **Langmuir**, Washington, v. 25, n. 24, p. 14086-14092, Dec. 2009.

HEIZE, T.; LIEBERT, T.; KOSCHELLA, A. **Esterification of Polysaccharides**. Berlin, Springer, 2006.

HIEU, N. V.; CUONG, N. D.; HOA, T. T.; KHIEU, D. Q.; LAM, T. D.; HOA, N. D. Synthesis, characterization, and comparative gas-sensing properties of Fe₂O₃ prepared from Fe₃O₄ and Fe₃O₄-chitosan. **J. Alloy. Comp.**, Lausanne, v. 523, p. 120-126, May 2012.

HOAGLAND, D. **Polyelectrolytes**. Encyclopedia of Polymer Science and Technology. v. 7, p. 439-504, Massachusetts, John Wiley&Sons, Inc., Apr. 2003.

HUA, D. B.; JIANG, J. L.; KUANG, L. J.; JIANG, J.; ZHENG, W.; LIANG, H. J. Smart Chitosan-Based Stimuli-Responsive Nanocarriers for Controlled Delivery of Hydrophobic Pharmaceuticals. **Macromolecules**, Washington, v. 44, n. 6, p. 1298-1302, Mar. 2011.

HUANG, M.; JIN, X.; LI, Y.; FANG, Y. Synthesis and characterization of novel pH-sensitive graft copolymers of maleylchitosan and poly(acrylic acid). **React. Funct. Polym.** Amsterdam, v. 66, n. 10, p. 1041-1046, Oct. 2006.

HUSKENS, J.; CRESPO-BIEL, O.; DORDI, B.; MAURY, P.; PETER, M.; REINHOUDT, D. N. Patterned, hybrid, multilayer nanostructures based on multivalent supramolecular interactions. **Chem. Mater.**, Washington, v. 18, n. 10, p. 2545-2551, May 2006.

INOUE, K.; YOSHIZUKA, K.; OHTO, K. Adsorptive separation of some metal ions by complexing agent types of chemically modified chitosan. **Anal. Chim. Acta**, Amsterdam, v. 338, n. 1-2, p. 209-218, May 1999.

ITO, S.; SHIMAZAKI, Y.; NAKAMURA, R.; YAMAMOTO, M. Molecular weight dependence of the alternate adsorption through charge-

transfer interaction. **Langmuir**, Washington, v. 17, n. 3, p. 953-956, Feb. 2001.

JESSEL, N.; OULAD-ABDELGHANI, M.; MEYER, F.; LAVALLE, P.; HAÏKEL, Y.; SCHAAF, P.; VOEGEL, J.-C. Multiple and time-scheduled *in situ* DNA delivery mediated by β -cyclodextrin embebed in a polyelectrolyte multilayer. **P. Natl. Acad. Sci. USA**, Washington, v. 103, n. 23, p. 8618-8623, Jun. 2006.

Jl, K.; WANG, F. X. Postdiffusion of Oligo-Peptide within Exponential Growth Multilayer Films for Localized Peptide Delivery. **Langmuir**, Washington, v. 25, n. 19, p. 11664-11671, Oct. 2009.

KAPLAN, D. L. **Biopolymers from Renewable Sources**. Berlin, Springer-Verlag, 1998.

KEKICHEFF, P.; KULCSAR, A.; LAVALLE, P.; VOEGEL, J.-C.; SCHAAF, P. Interactions between two polyelectrolytes multilayers investigated by surface force apparatus. **Langmuir**, Washington, v. 20, n. 2, p. 282-286, Jan. 2004.

KEKICHEFF, P.; KULCSAR, A.; VOEGEL, J.-C.; SCHAAF, P. Glassy state of polystyrene sulfonate/polyallylamine polyelectrolyte multilayers revealed by the surface force apparatus. **Langmuir**, Washington, v. 21, n. 4, p. 1166-1170, Feb. 2005.

KHAN, A. A.; SMITHA, B.; SRIDHAR, S. Polyelectrolyte complexes of chitosan and poly(acrylic acid) as proton exchange membranes for fuel cells. **Macromolecules**, Washington, v. 37, n. 6, p. 2233-2239, Mar. 2004.

KHUTORYANSKIY, V. V.; IRMUKHAMETOVA, G. S.; FRASER, B. J.; KEDDIE, J. L.; MUN, G. A. Hydrogen-Bonding-Driven Self-Assembly of PEGylated Organosilica Nanoparticles with Poly(acrylic acid) in Aqueous Solutions and Layer-by-Layer Deposition at Solid Surfaces. **Langmuir**, Washington, v. 28, n. 1, p. 299-306, Jan. 2012.

KORNEEV, D.; LVOV, Y. M.; DECHER, G.; SCHMITT, J.; YARADAIIKIN, S. Neutron reflectivity analysis of self-assembled film superlattices with alternate layers of deuterated and hydrogenated polystyrenesulfonate and polyallylamine. **Physica B**, Amsterdam, v. 213, p. 954-956, Aug. 1995.

KOTOV, N. A.; ANDRES, C. M. Inkjet Deposition of Layer-by-Layer Assembled Films. **J. Am. Chem. Soc.**, Washington, v. 132, n. 41, p. 14496-14502, Oct. 2010.

KOTOV, N. A.; MAMEDOV, A. A.; PRATO, M.; GULDI, D. M.; WICKSTED, J. P.; HIRSCH, A. Molecular design of strong single-wall carbon nanotube/polyelectrolyte multilayer composites. **Nat. Mater.**, London, v. 1, n. 3, p. 190-194, Nov. 2002.

KOTOV, N. A.; TANG, Z. Y.; WANG, Y.; PODSIADLO, P. Biomedical applications of layer-by-layer self-assembly: From biomimetics to tissue engineering. **Adv. Mater.**, Weinheim, v. 18, n. 24, p. 3203-3224, Dec. 2006.

KUNITAKE, T.; LVOV, Y.; ARIGA, K.; ICHINOSE, I. Assembly of multicomponent protein films by means of electrostatic layer-by-layer adsorption. **J. Am. Chem. Soc.**, Washington, v. 117, n. 22, p. 6117-6123, Jun. 1995.

LANGER, R.; KHADEMHOSEINI, A.; SUH, K. Y.; YANG, J. M.; ENG, G.; YEH, J.; LEVENBERG, S. Layer-by-layer deposition of hyaluronic acid and poly-L-lysine for patterned cell co-cultures. **Biomaterials**, v.25, n. 17, p. 3583-3592, Aug. 2004.

LANGMUIR, I. The constitution and fundamental properties of solids and liquids. II. Liquids. **J. Am. Chem. Soc.**, Washington, v. 39, n. 9, p. 1848-1906, Sep. 1917.

LAVALLE, P.; ZHANG, J.; SENGHER, B.; VAUTIER, D.; PICART, C.; SCHAAF, P.; VOEGEL, J.-C. Natural polyelectrolyte films based on layer-by-layer deposition of collagen and hyaluronic acid. **Langmuir**, Oxford, v. 26, n. 16, p. 3353-3361, Jun. 2005.

LE DOUX, J. M.; LANDAZURI, N.; KRISHNA, D.; GUPTA, M. Retrovírus-polymer complexes: Study of the factors affecting the dose response of transduction. **Biotechnol. Progr.**, Washington, v. 23, n. 2, p. 480-487, Mar.-Apr. 2007.

LI, Z. C.; DENG, L.; WANG, C. H.; LIANG, D. H. Re-examination of the "Zipeer Effect" in Hydrogen-Bonding Complexes. **Macromolecules**, Washington, v. 43, n. 6, p. 3004-3010, Mar. 2010.

LINGSTROM, R.; WAGBERG, L. Polyelectrolyte multilayers on wood fibers: Influence of molecular weight on layer properties and mechanical properties of papers from treated fibers. **J. Colloid Interface Sci.**, San Diego, v. 328, n. 2, p. 233-242, Dec. 2008.

LISDAT, F.; TANNE, J.; SCHAFER, D.; KHALID, W.; PARAK, W. J. Light-Controlled Bioelectrochemical Sensor Based on CdSe/ZnS Quantum Dots. **Anal. Chem.**, Washington, v. 83, n. 20, p. 7778-7785, Oct. 2011.

LONG, T. E.; HEMP, S. T.; HUNLEY, M. T.; CHENG, S. J.; DEMELLA, K. C. Synthesis and solution rheology of adenine-containing polyelectrolytes for electrospinning. **Polymer**, Oxford, v. 53, n. 7, p. 1437-1443, Mar. 2012.

LUCAS, E. F.; SOARES, B. G.; MONTEIRO, E. **Caracterização de Polímeros: Determinação de Peso Molecular e Análise Térmica**, Rio de Janeiro, Ed. E-PAPERS SERVIÇOS EDITORIAIS LTDA, 2001.

LVOV, Y.; DECHER, G.; SCHMITT, J. Proof of multilayer structural organization in self-assembled polycation polyanion molecular films. **Thin Solid Films**, Lausanne, v. 244, n. 1-2, p. 772-777, May 1994.

MATTOSO, L. H. C.; DOS SANTOS, D. S.; RIUL, A.; MALMEGRIM, R. R.; FONSECA, F. J.; OLIVEIRA, O. N. A Layer-by-Layer Filme f Chitosan in a Taste Sensor Application. **Macromol. Biosci.**, Weinheim, v. 3, n. 10, p. 591-595, Oct. 2003.

MUZZARELLI, R. A. A.; TANFANI, F.; EMANUELLI, M.; MARIOTI, S. N-(carboxymethylidene)chitosans and N-(carboxymethyl)chitosans: Novel chelating polyampholytes obtained from chitosan glyoxylate. **Carbohydr. Res.**, Amsterdam, v. 107, n. 2, p. 199-214, Jan. 1982.

NEGISHI, R.; HIRANO, H.; OHNO, Y.; MAEHASHI, K.; MATSUMOTO, K.; KOBAYASHI, Y. Layer-by-layer growth of graphene layers on graphene substrates by chemical vapor deposition. **Thin Solid Films**, Lausanne, v. 519, n. 19, p. 6447-6452, Jul. 2011.

NEU, B.; LUO, R.; MUTUKUMARASWAMY, S.; VENKATRAMAN, S. S. Engineering of erythrocyte-based drug carriers: control of protein release and bioactivity. **J. Mater. Sci. – Mater. M.**, DORDRECHT, v.23, n. 1, p. 63-71, Jan. 2012.

NOTLEY, S. M.; GRIFFITH, A. pH dependent stability of aqueous suspensions of graphene with adsorbed weak ionisable cationic polyelectrolyte. **J. Colloid Interface Sci.**, San Diego, v. 369, n. 1, p. 210-215, Mar. 2012.

OGIER, J.; DIMITROVA, M.; ARNTZ, Y.; LAVALLE, P.; MEYER, F.; WOLF, M.; SCHUSTER, C.; HAIKEL, Y.; VOEGEL, J.-C. Adenoviral gene delivery from multilayered polyelectrolyte architectures. **Adv. Funct. Mater.**, Weiheim, v. 17, n. 2, p. 233-245, Jan. 2007.

OHNISHI, T. Properties of doubled-stranded DNA as a polyelectrolyte. **Biophysical Journal.**, Bethesda, v. 3, n.6, p. 459-468, 1963.

PATIL, S.; MOHANTA, V.; MADRAS, G. Layer-by-Layer Assembled Thin Film of Albumin Nanoparticles for Delivery of Doxorubicin. **J. Phys. Chem. C**, Washington, v. 116, n. 9, p. 5333-5341, Mar. 2012.

PAVASANT, P.; RITCHAROEN, W.; PITT, S. Development of polyelectrolyte multilayer-coated electrospun cellulose acetate fiber mat as composite membranes. **Eur. Polym. J.**, Oxford, v. 44, n. 2, p. 3963-3968, Dec. 2008.

PARK, H.; HONG, J. Fabrication and characterization of block copolymer micelle multilayer films prepared by dip-, spin- and spray-assisted layer-by-layer assembly deposition. **Colloid Surface A**, Amsterdam, v. 381, n. 1-3, p. 7-12, May 2011.

PARK, H. J.; CHEN, X. G. Chemical characteristics of O-carboxymethyl chitosans related to the preparation conditions. **Carbohydr. Polym.**, Oxford, v. 53, n. 4, p. 355-359, Sep. 2003.

PARK, H. J.; CHO, Y.; KIM, J. T. Preparation, characterization, and protein loading of N-acyl chitosan nanoparticles. **J. Appl. Polym. Sci.**, Malden, v. 124, n. 2, p. 1366-1371, Apr. 2012.

PETRAK, K., **Polyelectrolyte Complex**, In: **Science and Technology**, p. 265-297, New York, Marcel Dekker Inc., 1993.

PETTERSSON, A.; MARINO, G.; PURSIHEIMO, A.; ROSENHOLM, J. B. Electrosteric stabilization of Al₂O₃, ZrO₂, and 3Y-ZrO₂ suspensions: Effect of dissociation and type of polyelectrolyte. **J. Colloid Interface Sci.**, San Diego, v. 228, n. 1, p. 73-81, Aug. 2000.

PICART, C.; LAVALLE, P.; HUBERT, P.; CUISINIER, F. J. G.; DECHER, G.; SCHAAF, P.; VOEGEL, J. C. Buildup mechanism for poly(L-lisine)/hyaluronic acid films onto a solid surface. **Langmuir**, Washington, v. 17, n. 23, p. 7414-7424, Nov. 2001.

PICHON, B. P.; LOUET, P.; FELIX, O.; DRILLON, M.; BEGIN-COLIN, S.; DECHER, G. Magnetotunable Hybrid Films of Stratified Iron Oxide Nanoparticles Assembled Layer-by-Layer Technique. **Chemistry of Materials**, Washington, v. 23, n. 16, p. 3668-3675, Aug. 2011.

Q-SENSE. Disponível em: < <http://qsense.com/qcm-d-technology>>. Acesso em 29/05/2012.

RAMSDEN, J. J. LVOV, Y. M.; DECHER, G. Determination of optical constants of molecular films assembled via alternate polyelectrolyte deposition. **Thin Solid Films**, Lausanne, v. 254, n. 1-2, p. 246-251, Jan. 1995.

REVEN, L.; FORTIER-MCGILL, B.; TOADER, V. Chain Dynamics of Water-Saturated Hydrogen-Bonded Polymer Complexes and Multilayers. **Macromolecules**, Washington, v. 44, n. 8, p. 2755-2765, Apr. 2011.

RICOTTI, L.; TACCOLA, S.; BERNARDESCHI, I.; PENSABENE, V.; DARIO, P.; MENCIASSI, A. Quantification of growth and differentiation of C2C12 skeletal muscle cells on PSS/PAH-based polyelectrolyte layer-by-layer nanofilms. **Biomed. Mater.**, Bristol, v. 6, n. 3, article number: 031001, Jun. 2011.

RINAUDO, M.; BRUGNEROTTO, J.; DESBRIERES, J.; ROBERTS, G. Characterization of chitosan by steric exclusion chromatography. **Polymer**, Oxford, v. 42, n. 25, p. 9921-9927, Dec. 2001.

ROUSE, J. H.; LILLEHEI, P. T.; SANDERSON, J.; SIOCHI, E. J. Polymer/single-walled carbon nanotube films assembled via donor-acceptor interactions and their use as scaffolds for silica deposition. **Chem. Mater.**, Washington, v. 16, n. 20, p. 3904-3910, Oct. 2004.

RUBINSTEIN, I.; WANUNU, M.; POPOVITZ-BIRO, R.; COHEN, H.; VASKEVICH, A. Coordination-based gold nanoparticles layers. **J. Am. Chem. Soc.**, Washington, v. 127, n. 25, p. 9207-9215, Jun. 2005.

RUBNER, M. F.; SHIRATORI, S. S. pH-dependent thickness behavior of sequentially adsorbed layers of weak polyelectrolytes. **Macromolecules**, Washington, v. 33, n. 11, p. 4213-4219, May 2000.

RUBNER, M. F.; COHEN, R. E.; LEE, D. All-Nanoparticle Thin-Film Coatings. **Nano Letters**, Washington, v. 6, n. 10, p. 2305-2312, Oct. 2006.

RUBNER, M. F.; NURAJE, N.; ASMATULU, R.; COHEN, R. E. Durable Antifog Films from Layer-by-Layer Molecularly Blended Hydrophilic Polysaccharides. **Langmuir**, Washington, v. 27, n. 2, p. 782-791, Jan. 2011.

SAUERBREY, G. Verwendung von Schwingquarzen zur Wägung dünner Schichten und zur Mikrowägung. **Z. Phys. A – Hadron. Nucl.**, New York, v. 155, n. 2, p. 206-222, Feb. 1959.

SASAKI, T.; EBINA, Y.; TANAKA, T.; HARADA, M.; WATANABE, M.; DECHER, G. Layer-by-Layer assembly of titania nanosheet/polycation composite films. **Chem. Mater.**, Washington, v. 13, n. 12, p. 4661-4667, Dec. 2001.

SCHAAF, P.; LAVALLE, P.; PICART, C.; MUTTERER, J.; GERGELY, C.; REISS, H.; VOEGEL, J.-C.; SENER, B. Modeling the buildup of polyelectrolyte multilayer films having exponential growth. **J. Phys. Chem. B**, Washington, v. 108, n. 2, p. 635-648, Jan. 2004.

SCHAAF, P.; MICHEL, A.; IZQUIERDO, A.; DECHER, G.; VOEGEL, J.-C.; BALL, V. Layer by layer self-assembled polyelectrolyte multilayers with embedded phospholipid vesicles obtained by spraying: Integrity of the vesicles. **Langmuir**, Washington, v. 21, n. 17, p. 7854-7859, Aug. 2005.

SCHLENOFF, J. B.; DUBAS, S. T.; FARHAT, T. Sprayed polyelectrolyte multilayers. **Langmuir**, Washington, v. 16, n. 26, p. 9968-9969, Dec. 2000.

SCHLENOFF, J. B. DUBAS, S. T. Swelling and Smoothing of Polyelectrolyte Multilayer by Salt. **Langmuir**, Washington, v. 17, n. 25, p. 7725-7727, Dec. 2001.

SCHLENOFF, J. B.; SUI, Z. J.; SALLOUM, D. Effect of molecular weight on the construction of polyelectrolyte multilayers: Stripping versus sticking. **Langmuir**, Washington, v. 19, n. 6, p. 2491-2495, Mar. 2003.

SCHLENOFF, J. B.; GHOSTINE, R. A. Ion Diffusion Coefficients Through Polyelectrolyte Multilayers: Temperature and Charge Dependence. **Langmuir**, Washington, v. 27, n. 13, p. 8241-8247, Jul. 2011.

SCHONHOFF, M.; BIEKER, P. Linear and Exponential Growth Regimes of Multi layers of Weak Polyelectrolytes in Dependence on pH. **Macromolecules**, Washington, v. 43, n. 11, p. 5052-5059, Jun. 2010.

SERIZAWA, T.; NAGASAKA, Y.; MATSUNO, H.; SHIMOYAMA, N.; KURITA, K. A stereocomplex platform efficiently detecting antigen-antibody interactions. **Bioconjugate Chem.**, Washington, v. 18, n. 2, p. 355-362, Mar.-Apr. 2007.

SHARMA, C. P.; SHELMA, R. Development of lauroyl sulfated chitosan for enhancing hemocompatibility of chitosan. **Colloid Surf. B**, Amsterdam, v. 84, n. 2, p. 561-570, Jun. 2011.

SHEU, M. T.; CHEN, R. N.; WANG, G. M.; CHEN, C. H.; HO, H. O. Development of N,O-(carboxymethyl)chitosan/collagen matrixes as a wound dressing. **Biomacromolecules**, Washington, v. 7, n. 4, p. 1058-1064, Apr. 2006.

SHI, G.; XU, Y.; BAI, H.; LU, G.; LI, C. Flexible Graphene Films via the Filtration of Water-Soluble Noncovalent Functionalized Graphene Sheets. **J. Am. Chem. Soc.**, Washington, v. 130, n. 18, p. 5856-5857, May 2007.

SHUKLA, A. K.; MEENAKSHI, S.; BHAT, S. D.; SAHU, A. K.; SRIDHAR, P.; PITCHUMANI, S. Chitosan-polyvinyl alcohol-sulfonated polyethersulfone mixed-matrix membranes as methanol-barrier electrolytes for DMFCs. **J. Appl. Polym. Sci.**, Malden, v. 124, SI, p. E73-E82, Jun. 2012.

SNEH, O.; CLARK-PHELPS, R. B.; LONDERGAN, A. R.; WINKLER, J.; SEIDEL, T. E. Thin film atomic layer deposition equipment for semiconductor processing. **Thin Solid Films**, Lausanne, v. 402, n. 1-2, p. 248-261, Jan. 2002.

SRIVASTAVA, R. JAYANT, R. D.; MCSHANE, M. J. In vitro and in vivo evaluation of anti-inflammatory agents using nanoengineered alginate carriers: Towards localized implant inflammation suppression. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, v. 403, n. 1-2, p. 268-275, Jan. 2011.

SUKHORUKOV, G. B.; SHENOY, D. B. Engineered microcrystals for direct surface modification with layer-by-layer technique for optimized

dissolution. **Eur. J. Pharm. Biopharm.**, Amsterdam, v. 58, n. 3, p. 521-527, Nov. 2004.

SUN, C. T.; MERRILL, M. H. Fast, simple, and efficient assembly of nanolayered materials and devices. **Nanotechnology**, v. 20, n. 7, Article Number: 075606, Feb. 2009.

SUNG, H. W.; CHEN, M. C.; LIANG, H. F.; CHIU, Y. L.; CHANG, Y.; WEI, H. J. A novel drug-eluting stent spray-coated with multi-layers of collagen and sirolimus. **J. Control. Release**, Amsterdam, v. 108, n. 1, p. 178-189, Nov. 2005.

SUZUKI, I.; EGAWA, Y.; MIZUKAWA, Y.; HOSHI, T.; ANZAI, J. Construction of positively-charged layered assemblies assisted by cyclodextrin complexation. **Chem. Commun.**, Cambridge, n. 2, p. 164-165, 2002.

TARABARA, V. V.; SHAN, W. Q.; BACCHIN, P.; AIMAR, P.; BRUENING, M. L. Polyelectrolyte multilayer films as backflushable nanofiltration membranes with tunable hydrophilicity and surface charge. **J. Membrane Sci.**, Amsterdam, v. 349, n. 1-2, p. 268-278, Mar. 2010.

TANG, Y. C.; DUAN, J. C.; WU, J. H. A laser light scattering study of complex formation between soybean peroxidase and poly(N-isopropylacrylamide-co-sodium styrene sulfonate). **Colloid Surface A**, Amsterdam, v. 395, p. 82-87, Feb. 2012.

THUNEMANN, A. F.; MULLER, M.; DAUTZENBERG, H.; JOANNY, J. F. O.; LOWEN, H. **Polyelectrolyte Complexes**. in Polyelectrolytes with defined molecular architecture II. v. 166, p. 113-171, Berlin, Springer-Verlag Berlin, 2004.

TONG, Z.; YE, S. Q.; WANG, C. Y.; LIU, X. X.; REN, B.; ZENG, F. New loading process and release properties of insulin from polysaccharide microcapsules fabricated through layer-by-layer assembly. **J. Control. Release**, Amsterdam, v. 112, n. 1, p. 79-87, May 2006.

TSUKRUK, V.; CHOI, I.; SUNTIVICH, R.; PAMPER, F. A.; SYNATSCHKE, C. V.; MULLER, A. H. E. pH-Controlled Exponential and Linear Growing Modes of Layer-by-Layer Assemblies of Star Polyelectrolytes. **J. Am. Chem. Soc.**, Washington, v. 133, n. 24, p. 9592-9606, Jun. 2011.

URZUA, M. D.; BRIONES, X. G.; ENCINAS, M. V.; PETRI, D. F. S.; PAVEZ, J. E.; TAPIA, R. A.; YAZDANI-PEDRAM, M. Adsorption Behavior of Hydrophobically Modified Polyelectrolytes onto Amino- or Methyl-Terminated Surfaces. **Langmuir**, Washington, v. 27, n. 22, p. 13524-13532, Nov. 2011.

VAN ENCKEVORT, W. J. P.; JANSSEN, G.; VOLLENBERG, W.; SCHERMER, J. J.; GILING, L. J.; SEAL, M. CVD diamond growth mechanisms as identified by surface topography. **Diam. Relat. Mater.**, Lausanne, v. 2, n. 5-7, p. 997-1003, Apr. 1993.

VAN TASSEL, P. R.; NGANKAM, A. P. In situ layer-by-layer film formation kinetics under an applied voltage measured by optical waveguide lightmode spectroscopy. **Langmuir**, Washington, v. 21, n. 13, p. 5865-5871, Jun. 2005.

VASHEGHANI-FARAHANI, E.; TAVAKOL, M.; DOLATABADI-FARAHANI, T.; HASHEMI-NAJAFABADI, S. Sulfasalazine release from alginate-N,O-carboxymethyl chitosan gel beads coated by chitosan. **Carbohydr. Polym.**, Oxford, v. 77, n. 2, p. 326-330, Jun. 2009.

VOEGEL, J.-C.; LADAM, G.; SCHAAD, P.; SCHAAF, P.; DECHER, G.; CUISINIER, F. In situ determination of the structural properties of initially deposited polyelectrolyte multilayers. **Langmuir**, Washington, v. 16, n. 3, p. 1249-1255, Feb. 2000.

VOEGEL, J.-C.; GARZA, J. M.; SCHAAF, P.; MULLER, S.; BALL, V.; STOLTZ, J. F.; LAVALLE, P. Multicompartment films made of alternate polyelectrolyte multilayers of exponential and linear growth. **Langmuir**, Washington, v. 20, n. 17, p. 7298-7302, Aug. 2004.

VOZAR, S.; POH, Y.-C.; SERBOWICZ, T.; BACHNER, M.; PODSIADLO, P.; VERPLOEGEN, E.; KOTOV, N.; HART, J. Automated spin-assisted layer-

by-layer assembly of nanocomposites. **Rev. Sci. Instrum.**, Rochester, v. 80, n. 2, Feb. 2009.

WALSH, C. B.; FRANCES, E. I. Ultrathin PMMA films spin-coated from toluene solution. **Thin Solid Films**, Lausanne, v. 429, n. 1-2, p. 71-76, Apr. 2003.

WANG, A.; SUN, S. Adsorption properties and mechanism of cross-linked carboxymethyl-chitosan resin with Zn(II) as template ion. **React. Funct. Polym.**, Amsterdam, v. 66, n. 8, p. 819-826, Aug. 2006.

WANG, A.; WANG, L. Adsorption properties of congo red from aqueous solution onto N,O-carboxymethyl-chitosan. **Bioresource Technol.**, Oxford, v. 99, n. 5, p. 1403-1408, Mar. 2008.

WANG, Y.; WEI, W. Z.; LIU, X. Y.; ZENG, X. D. Carbon nanotube/chitosan/gold nanoparticles-based glucose biosensor prepared via layer-by-layer technique. **Mat. Sci. Eng. C – Bio. S.**, Amsterdam, v. 29, n. 1, p. 50-54, Jan. 2009.

WEI, Y. P.; HAN, J.; CHENG, F.; WANG, X. G. Solution properties and microstructure of cationic cellulose/sodium dodecyl benzene sulfonate complex system. **Carbohydr. Res.**, Oxford, v. 88, n. 1, p. 139-145, Mar. 2012.

WILLENBACHER, N.; FRITZ, G.; SCHADLER, V.; WAGNER, N. J. Electrosteric stabilization of colloidal suspensions. **Langmuir**, Washington, v. 18, n. 16, p. 6381-6390, Aug. 2002.

WINNIK, F. M.; KUJAWA, P.; MORAILLE, P.; SANCHEZ, J.; BADIA, A. Effect of molecular weight on the exponential growth and morphology of hyaluronan/chitosan multilayers: A surface plasmon resonance spectroscopy and atomic force microscopy investigation. **J. Am. Chem. Soc.**, Washington, v. 127, n. 25, p. 9224-9234, Jun. 2005.

WITT, M. A.; BARRA, G. M. O.; BERTOLINO, J. R.; PIRES, A. T. N. Crosslinked Chitosan/Poly(Vinyl Alcohol) Blends with Proton

Conductivity Characteristic. **J. Brazil. Chem. Soc.**, São Paulo, v. 21, n. 9, p. 1692-1698, 2010.

WONG, J. E.; DIEZ-PASCUAL, A. M.; RICHTERING, W. Layer-by-Layer Assembly of Polyelectrolyte Multilayers on Thermoresponsive P(NiPAM-co-MAA) Microgel: Effect of Ionic Strength and Molecular Weight. **Macromolecules**, Washington, v. 42, n. 4, p. 1229-1238, Feb. 2009.

YAMAMOTO, M.; SHIMAZAKI, Y.; MITSUISHI, M.; ITO, S. Preparation of the layer-by-layer deposited ultrathin film based on the charge-transfer interaction. **Langmuir**, Washington, v. 13, n. 6, p. 1385-1387, Mar. 1997.

YANG, X. R.; CUI, X. Q.; PEI, R. J.; WANG, X. Z.; YANG, F.; MA, Y.; DONG, S. J. Layer-by-layer assembly of multilayer films composed of avidin and biotin-labeled antibody for immunosensing. **Biosens. Bioelectron.**, Oxford, v. 18, n. 1, p. 59-67, Jan. 2003.

YANG, W. S.; ZHANG, X.; EVANS, D. G. Layer-by-Layer self-assembly of manganese oxide nanosheets/polyethylenimine multilayer films as electrodes for supercapacitors. **J. Power Sources**, Amsterdam, v. 184, n. 2 (special issue), p. 695-700, Oct. 2008.

YIN, C. H.; CUI, L. M.; TANG, C. Effects of quaternization and PEGylation on the biocompatibility, enzymatic degradability and antioxidant activity of chitosan derivatives. **Carbohydr. Polym.**, Oxford, v. 87, n. 4, p. 2505-2511, Mar. 2012.

YOUN, H. J.; RYU, J.; CHIN, S.M.; LEE, S. Effect of pH and conductivity in weak polyelectrolytes multilayering on paper properties. **Nord. Pulp Pap. Res. J.**, Stockholm, v. 26, n. 4, p. 410-414, 2011.

ZEMBALA, M.; ADAMCZYK, Z.; KOLASINSKA, M.; WARSZYNSKI, P. Characterization of polyelectrolyte multilayers on mica and oxidized titanium by streaming potential and wetting angle measurements. **Colloid Surface A**, Amsterdam, v. 302, n. 1-3, p. 455-460, Jul. 2007.

ZHAI, M. L.; HUANG, L.; PENG, J.; LI, J. Q.; WEI, G. S. Radiation-induced degradation of carboxymethylated chitosan in aqueous solution. **Carbohydr. Polym.**, Oxford, v. 67, n. 3, p. 305-312, Feb. 2007.

ZHAN, R.; THOMASSON, E.; GUILLAUME-GENTIL, O.; VOROS, J.; ZAMBELLI, T. Ion-induced cell sheet detachment from standard cell culture surfaces coated with polyelectrolytes. **Biomaterials**, Oxford, v. 33, n. 12, p. 3421-3427, Apr. 2012.

ZHANG, R. J.; LI, W. H.; MOHWALD, H.; SUI, W. P.; WANG, Z. P.; GAO, C. Y. Shell modulation by tailoring substituents in chitosan for LbL-assembled microcapsules. **J. Colloid. Interface Sci.**, San Diego, v. 372, p. 40-44, Apr. 2012.

ZHANG, L.; PENG, X. Self-assembled micelles of *N*-phthaloyl-carboxymethylchitosan for drug delivery. **Colloid Surface A**, Amsterdam, v. 337, n. 1-3, p. 21-25, Apr. 2009.

ZHANG, G. J.; RUAN, Z. G.; JI, S. L.; LIU, Z. Z. Construction of Metal-Ligand-Coordinated Multilayers and Their Selective Separation Behavior. **Langmuir**, Washington, v. 26, n. 7, p. 4782-4789, Apr. 2010.

ZHANG, X.; ZHANG, H. Y.; WANG, Z. Q.; ZHANG, Y. Q. Hydrogen-bonding-directed layer-by-layer assembly of poly(4-vinylpyridine) and poly(4-vinylphenol): Effect of solvent composition on multilayer buildup. **Langmuir**, Washington, v. 20, n. 21, p. 9366-9370, Oct. 2004.

ZHU, A.; CHAN-PARK, M. B.; DAI, S.; LI, L. The aggregation behavior of O-carboxymethylchitosan in dilute aqueous solution. **Colloid Surface B**, Amsterdam, v. 43, n. 3-4, p. 143-149, Jul. 2005

ZHU, A.; YUAN, L.; LU, Y. Synthesis and aggregation behavior of *N*-succinyl-O-carboxymethylchitosan in aqueous solution. **Colloid Polym. Sci.**, Heidelberg, v. 285, n. 14, p. 1535-1541, Aug. 2007.